

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

THÈSE PRÉSENTÉE À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DU DOCTORAT EN BIOPHYSIQUE

PAR
JEAN-LUC BROUSSEAU

SPECTROSCOPIE PAR EFFET TUNNEL INÉLASTIQUE
DE LA BREVETOXINE ET DE L'OCTADÉCYLTRIMÉTHOXYLANE

JANVIER 1999

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

À mes parents, Diane et Justin,
qui ont su m'appuyer dans la poursuite de mon doctorat.

RÉSUMÉ

La spectroscopie par effet tunnel inélastique (SETI) est un outil spectroscopique comportant des avantages sur les méthodes spectroscopiques conventionnelles. Nous avons utilisé cette méthode spectroscopique afin d'obtenir les spectres vibrationnels de brevetoxines et d'un polymère d'octadecyltriméthoxysilane. Ces deux systèmes moléculaires sont bien différents, mais ils ont la particularité d'être difficiles d'investigation par les méthodes spectroscopiques conventionnelles, alors la SETI est la méthode tout appropriée pour l'investigation des modes vibratoires de ces molécules. Pour la première molécule, la brevetoxine, la quantité disponible est très faible et donc l'étude spectroscopique par infrarouge ou Raman de ces molécules en solution était impossible. Nous avons étudié les spectres vibrationnels entre 200 et $1\,800\text{ cm}^{-1}$ de quatre de ces toxines marines, noté PbTx. Les spectres des PbTx-2, PbTx-3, PbTx-9 et de la PbTx-3 complètement réduite ont été obtenus en moyennant 25 spectres SETI puis la ligne de base a été soustraite. Nous présentons l'assignation de toutes les bandes vibrationnelles de ces spectres. Dans cette thèse, nous montrons que la chaîne polycyclique des brevetoxines donne une bande vibrationnelle à bas nombre d'ondes. Pour la première fois aussi nous avons pu procéder à une simulation spectrale car les spectres obtenus comportent très peu de bruit. Cette reconstitution de bandes dans la région $1\,330 - 1\,500\text{ cm}^{-1}$ nous a permis de séparer les bandes vibrationnelles C-H. Nous avons aussi montré que la SETI peut être

utilisée pour étudier les caractéristiques vibrationnelles de quantité aussi petite que 1 ng de brevetoxines. Dans le second cas, pour la molécule d'octadécyltriméthoxysilane (ODTMS), nous avons montré que la SETI pouvait être utilisée pour étudier un film monomoléculaire polymérisé. La polymérisation par la méthode sol-gel se fait en deux étapes. La première étape est une hydrolyse, puis la seconde, une condensation. Cette réaction sol-gel permet la création dans une première étape, d'une protonation, et dans une seconde étape, d'un polymère. Nous avons étudié pour la première fois le spectre vibrationnel de l'ODTMS en film Langmuir en déposant le film par la méthode de Langmuir-Schaefer. Nous avons montré que le film fabriqué à des pH de sous-phase de 1.3 et 3.3 est polymérisé linéairement tandis que le film fabriqué à pH 3.8 est hydrolysé. Ici encore, seule la SETI présentait la possibilité d'étudier une monocouche sur une gamme spectrale de 200 – 1 800 cm^{-1} . Cette gamme spectrale est particulièrement importante car nous avons trouvé que la chaîne polymérisée donne une bande vibrationnelle intense à faible énergie. Très peu de spectromètres vibrationnels permettent l'étude à de telles fréquences. Finalement nous avons utilisé la grande sensibilité de la SETI dû au fait qu'elle n'ait pas de règles de sélection fortes et qu'une grande gamme spectrale est employée. De plus cette méthode spectroscopique permet d'étudier des molécules disponibles qu'en faible quantité, ce qui est démontré pour la brevetoxine ainsi que pour le produit d'une réaction de sol-gel.

AVANT-PROPOS

Mon doctorat fut toute une aventure qui a commencé à Trois-Rivières en septembre 1993 avec comme directeur Dr. R. M. Leblanc. Mon projet de recherche portait sur l'étude d'algues par spectroscopie à photodéflexion thermique aussi connue sous le nom de spectroscopie à effet mirage. Ce projet était subventionné par Energie Atomique du Canada (EAC). Le docteur Leblanc a déménagé son laboratoire de recherche à l'University of Miami en Floride où plusieurs étudiants ont continué leurs recherches. La première année à Miami fut quelque peu longue car il fallut réinstaller tout le laboratoire dans des locaux temporaires au Cox Science Building afin de pouvoir continuer nos recherches pendant que l'université était à construire des laboratoires dans un nouvel édifice aménagé spécialement pour nos besoins. Cette première année fut aussi la fin de la subvention d'EAC, et donc la fin de la recherche sur les algues. La deuxième année à Miami fut encore une année de déménagement où nous avons mis en place les systèmes servant aux expériences, cette fois-ci dans des locaux permanents. Les troisième et quatrième années furent des années consacrées presque entièrement à la recherche, j'ai aussi complété mes cours requis à l'Université du Québec à Trois-Rivières. La cinquième année fut consacrée à l'écriture de manuscrits, à reléguer mes connaissances de la SETI, à l'écriture de la thèse, et à la recherche d'un post-doctorat. Mon doctorat a été aussi enrichi d'une expérience nouvelle, celle de donner des laboratoires aux étudiants de chimie de troisième et quatrième

année. Avec jusqu'à 12 heures de cours/laboratoires par semaine, cette expérience demanda beaucoup de mon temps et de mon énergie.

Malgré tous ces déménagements et à côtés, j'ai su mener ma recherche sur la SETI et étudier des acides aminées, des polypeptides, des fullerenes, des toxines, l'octadécyltriméthoxysilane et l'hexadécyltriéthoxysilane. Cette expérience fut très enrichissante pour moi car elle m'a permis de découvrir le fonctionnement des universités américaines, aussi bien au niveau gradué que sous-gradué. En plus, dû au caractère polyethnique de l'université et de la ville, j'ai connu des gens qui m'ont fait connaître différentes facettes du monde, en particulier universitaire.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mon directeur de thèse, Dr. Sylvain Robert, pour l'aide qu'il m'a apportée auprès de l'Université du Québec à Trois-Rivières et des correcteurs. Je remercie Dr. R. M. Leblanc pour m'avoir accueilli initialement dans son équipe à l'Université du Québec à Trois-Rivières et par la suite au département de chimie de l'University of Miami.. Je tiens a remercier les correcteurs de cette thèse, Dr. Roger M. Leblanc de l'Université de Miami, Dr. Ian S. Butler de l'Université McGill, Dr. Camille Chapados, Dr. Roland Côté, et Dr. Jacques Goyettes tous trois de l'Université du Québec à Trois-Rivières. Je tiens aussi à remercier K. S. Rein et son directeur de thèse, Dr. D. G. Baden, du Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Sciences (RSMAS) qui m'ont fourni les brevetoxines. Finalement, je remercie les étudiants du département de chimie tout particulièrement Sébastien Vidon et Shirly Montero avec qui j'ai eu de longues discussions sur les sujets physiques, chimiques et philosophiques. Merci à vous tous, car vous avez su rendre mes études doctorales plus agréables.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	III
AVANT-PROPOS.....	V
REMERCIEMENTS	VII
TABLE DES MATIÈRES	VIII
LISTE DES FIGURES	XI
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	XII
1 INTRODUCTION	1
1.1 LA SPECTROSCOPIE PAR EFFET TUNNEL INÉLASTIQUE	1
1.1.1 <i>Qu'est-ce que la SETI?</i>	1
1.1.2 <i>Les origines de la SETI</i>	2
1.1.3 <i>Les avantages de la SETI</i>	4
1.1.4 <i>Les faiblesses de la SETI</i>	6
1.2 LA BREVETOXINE.....	7
1.2.1 <i>La nature de la brevetoxine</i>	7
1.2.2 <i>Les recherches sur la brevetoxine</i>	10

1.2.3 La SETI révèle la brevetoxine	10
1.3 L'OCTADÉCYLTRIMÉTHOXYLANE	11
1.3.1 Les sol-gels	11
1.3.2 Les mécanismes de polymérisation des sol-gels	12
1.3.3 La SETI au secours des sol-gels	15
RÉFÉRENCES DU CHAPITRE 1	16
2 MATÉRIEL ET MÉTHODE	19
2.1 LE SPECTROMÈTRE	19
2.1.1 Les généralités	19
2.1.2 Le circuit détaillé du spectromètre	20
2.1.3 L'appareil spectrométrique	25
2.1.4 L'acquisition des spectres	26
2.1.5 Le traitement des spectres	29
2.2 LES JONCTIONS	29
2.2.1 Le substrat	29
2.2.2 Les conducteurs	32
2.2.3 Les méthodes de déposition du produit	33
2.2.4 Les mesures de résistance	34
RÉFÉRENCES DU CHAPITRE 2	35
3 ARTICLES PUBLIÉS	36
3.1 UV-VISIBLE AND INELASTIC ELECTRON TUNNELING SPECTROSCOPIES OF BREVETOXINES	36

3.2 INVESTIGATION OF THE CHEMICAL NATURE OF TWO-DIMENSIONAL POLYMERIZED OCTADECYLTRIMETHOXYLANE LANGMUIR FILMS BY INELASTIC ELECTRON TUNNELING SPECTROSCOPY.....	64
4 CONCLUSIONS.....	93

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Structure des brevetoxines du type A.	8
Figure 1.2 Structure des brevetoxines du type B.	9
Figure 1.3 Réaction de polymérisation de l'octadécyltriméthoxysilane (ODTMS). a) ODTMS sur l'eau, b) ODTMS après hydrolyse, c) ODTMS polymérisé après condensation.	13
Figure 2.1 Propagation des signaux dans les spectromètres.	21
Figure 2.2 Circuit détaillé du spectromètre (Gauvin et Leblanc, 1992).	22
Figure 2.3 Détails électronique du nouveau spectromètre.	23
Figure 2.4. Détail du circuit électronique des amplificateurs et filtres.	27
Figure 2.5. Diagramme du masque (A et B) et du substrat avec le connecteur (C). a) masque mobile, b) masque fixe, c) substrat, d) connecteur de carte, e) long tube à paroi mince.	31

LISTE DES ABRÉVIATIONS

<i>Abréviation</i>	<i>Signification</i>
C ₁₆ TES	Hexadécyltriéthoxysilane.
C ₁₈ TMS	Octadécyltriméthoxysilane (aussi noté ODTMS).
C ₆₀	Molécule composé de 60 carbones connu sous le nom de Buckminsterfullerene.
L-B	Technique Langmuir-Blodgett de déposition de films minces.
LD ₁₀₀	Qui cause la mort à 100% des échantillons (Lethal Dose 100%).
L-S	Technique Langmuir-Schaefer de déposition de films minces.
MIM	Jonction Métal / Isolant / Métal.
MIS	Jonction Métal / Isolant / Supraconducteur.
ODTMS	Octadécyltriméthoxysilane (aussi noté C ₁₈ TMS).
PbTx	Anciennement nommé toxine <i>Ptychodiscus brevis</i> , maintenant appelé brevetoxine.
PMIRRAS	Polarization Modulated Infrared Reflection Absorption Spectroscopy. (Français : SRIRDMP).
p-n	Jonction positive-négative.
S / B	rapport signal sur bruit.
SEM	Microscopie électronique à balayage (Scanning Electron Microscope).

SETI	Spectroscopie par Effet Tunnel Inélastique.
SIS	Jonction Supraconducteur / Isolant / Supraconducteur.
SRIRDMP	Spectroscopie de Réflectivité InfraRouge Différentielle par Modulation de Polarisation. (Anglais : PMIRRAS).
STM	Microscope à effet tunnel (Scanning Tunneling Microscope).
T_c	Température de transition supraconductrice.
VSSC	Canal à ion sodium (Voltage-Sensitive Sodium Channel).

1 INTRODUCTION

1.1 La Spectroscopie par Effet Tunnel Inélastique

1.1.1 Qu'est-ce que la SETI?

Depuis quelques années, la Spectroscopie par Effet Tunnel Inélastique (SETI) est établie comme une méthode spectroscopique vibrationnelle ayant une grande utilité, mais limitée à l'étude de molécules adsorbées sur une surface car elle possède des caractéristiques particulières telles une large gamme spectrale en continue, une excellente sensibilité, une bonne résolution, aucune règle de sélection connue ainsi que la possibilité d'observer la chimisorption ou physisorption de molécules sur une surface. Voyons un peu les principes de fonctionnement de la SETI.

Lorsqu'une tension est appliquée de part et d'autre d'un isolant parfait, aucun courant ne peut passer à travers cette barrière de potentiel. Par contre, si l'isolant contient des imperfections ou si l'isolant est suffisamment mince, la mécanique quantique prévoit qu'un courant faible peut être mesuré à travers cette barrière de potentiel. Ce courant est appelé courant tunnel et la SETI consiste en la détection du courant tunnel inélastique à

travers un système superposé du type général métal/isolant/métal (Jonction MIM). Récapitulons les travaux qui ont permis le développement de cette technique spectroscopique.

1.1.2 Les origines de la SETI

Les premières recherches théoriques qui ont prédit la possibilité d'un courant tunnel furent menées en 1928 par Fowler et Nordheim [1]. Ces chercheurs ont prédit la faible possibilité que, sous l'effet d'un fort champ électrique appliqué à la surface d'un métal, les électrons pourraient passer par effet tunnel sous vide. Toutefois, ce n'est qu'en 1930 que la possibilité de conduction tunnel à travers un isolant a été énoncé par Frenkel [2], puis cette théorie fut généralisée par Sommerfeld et Bethe [3]. Les premières recherches expérimentales sur ce phénomène furent entreprises en 1957 par Esaki qui étudiait la physique de l'état solide et découvrit la possibilité d'obtenir par effet tunnel, à travers un film mince, une jonction semi-conductrice du type p-n [4]. Une contribution importante au développement de la recherche sur l'effet tunnel fut celle de Giaever [5, 6] qui en 1960 substitua une des électrodes métalliques par une électrode supraconductrice (Pb) afin de confirmer que la conduction était bien due à un passage par effet tunnel des électrons à travers la barrière de potentiel. L'électrode supraconductrice permet de noter la non-linéarité [7, 8] de la courbe courant (I) - tension (V) due au changement rapide de la densité électronique du supraconducteur soumis à une tension de l'ordre de la transition. Giaever a noté un changement dramatique dans la courbe I-V lorsque la température de la jonction est

inférieure à la température de transition supraconductrice du plomb ($T_c \text{ Pb} = 7.2 \text{ K}$), preuve irréfutable de la conduction par effet tunnel. Pendant ce temps, les recherches théoriques de McMillan et Rowell [9] montrèrent que l'effet tunnel est un bon indicateur de la supraconductivité d'un métal. Une autre contribution majeure fut celle de Josephson [10] qui prédit que la conduction à travers une jonction du type sandwich composé d'éléments supraconducteur/isolant/supraconducteur (Jonction SIS) peut se faire par une paire d'électrons (paire de Cooper [11]) qui passe par effet tunnel à travers l'isolant même si aucune tension n'est appliquée à la jonction. L'année suivante cette théorie fut vérifiée expérimentalement par Anderson et Rowell [12].

La première application de l'effet tunnel à travers les films minces fut démontrée par Jaklevic et Lambe [13] en 1966 alors qu'ils mirent au point un système de SETI. La possibilité d'obtenir une conduction par effet tunnel sans évaporer une électrode sur l'isolant fut exploré par Binning *et al.* [14, 15] alors qu'ils mirent au point un système d'imagerie atomique. La deuxième électrode fut remplacée par une pointe conductrice tenue près de l'isolant afin de permettre la conduction à travers l'isolant. Cette méthode est la microscopie à balayage par effet tunnel (Scanning Tunneling Microscopy : STM). Le problème majeur de cette expérience est la stabilité de la pointe qui devait avoir un mouvement perpendiculaire à la surface, inférieur à 0.2 \AA . Récemment, Hipps et Mazur [16] ont discuté de la possibilité d'utiliser un STM afin d'observer les transitions électroniques, ils entrevoient l'avenir de la SETI comme une technique spectroscopique moléculaire alternative.

1.1.3 Les avantages de la SETI

La SETI comporte maints avantages en comparaison aux techniques spectroscopiques usuelles (Infrarouge et Raman). Tout d'abord, dû à l'utilisation d'une jonction MIS, la SETI permet d'obtenir le spectre vibrationnel d'une fraction d'une monocouche sur une surface inférieure à 1 mm^2 . Cette particularité de la SETI permet d'analyser des composés dont la disponibilité en grande quantité est impossible. C'est notamment le cas de la brevetoxine [17]; cette toxine est difficile à obtenir et à purifier, de ce fait, seulement quelques microgrammes de cette toxine sont disponibles annuellement, ce qui rend difficile l'étude vibratoire par les techniques spectroscopiques conventionnelles.

Une autre force de la SETI est la possibilité d'étudier l'adsorption de molécules sur une surface métallique ou sur un oxyde ou même l'étude de la couche d'oxyde elle-même. Le groupe de recherche du Dr. Mallik étudie depuis quelques années, à l'aide d'un appareil SETI, les interactions d'adsorption de l'alkoxysilane sur des oxydes d'aluminium ainsi que différentes compositions d'oxyde de silicium (SiO_x) [18-20].

Les particularités de la SETI ont permis à Hansma et Parikh [21] d'effectuer des recherches sur les dommages infligés aux monocouches après bombardement électronique

afin de déterminer la dégradation de films de fructose étudiés par microscopie électronique à balayage (Scanning Electron Microscope : SEM)

Un autre avantage de la SETI est la possibilité de détecter toutes les bandes vibrationnelles indépendamment du moment dipolaire ou quadrupolaire de la molécule. Ainsi Brousseau *et al.* [22] ont montré que la SETI pouvait être utilisée afin de déterminer les niveaux d'énergie vibrationnels de la molécule Buckminsterfullerene (C_{60}). Pour cette molécule symétrique, la spectroscopie IR ne résout que 4 modes vibrationnels tandis que la spectroscopie Raman résout 10 modes vibrationnels sur un total de 46 bandes non-dégénérées. La SETI nous a permis de mesurer 24 modes vibrationnels.

La SETI permet aussi l'acquisition d'un spectre vibrationnel de 200 à 6 000 cm^{-1} en continu sans changer de fenêtres de transmission. Cette caractéristique a été utilisée afin de déterminer les interactions intermoléculaires de polymères bidimensionnels lors de leur formation. En effet, la faible énergie vibrationnelle des modes de vibration de la chaîne polymérique présente une bande d'absorption dans l'infrarouge lointain qui est difficilement détectable par le spectrophotomètre infrarouge conventionnels et qui est attribué à la limitation de la fenêtre de transmission.

1.1.4 Les faiblesses de la SETI

Comme la SETI demande un courant tunnel inélastique mesurable, l'isolant à mesurer doit laisser passer les électrons par effet tunnel. Cet effet est limité à une épaisseur de l'ordre d'une trentaine d'angströms ($\approx 30 \text{ \AA}$), ce qui pose un problème à l'étude de composés agrégés ou trop épais pour l'étude en SETI.

Une autre faiblesse de la SETI est la difficulté d'obtenir une jonction avec une bonne conduction tunnel. De par sa fabrication, la jonction possède une résistance interne et, afin de mesurer la partie inélastique de la conduction tunnel, la jonction doit avoir une résistance, qui est limitée par le spectromètre, à une valeur entre 50 et 500 Ω .

De plus la SETI demande que la jonction à étudier soit tenue à une température cryogénique, ce qui demande une source d'hélium liquide ($T = 4.2 \text{ K}$) ou un cryostat qui permettrait d'acquérir les données expérimentales à une température de 1.1 K [23].

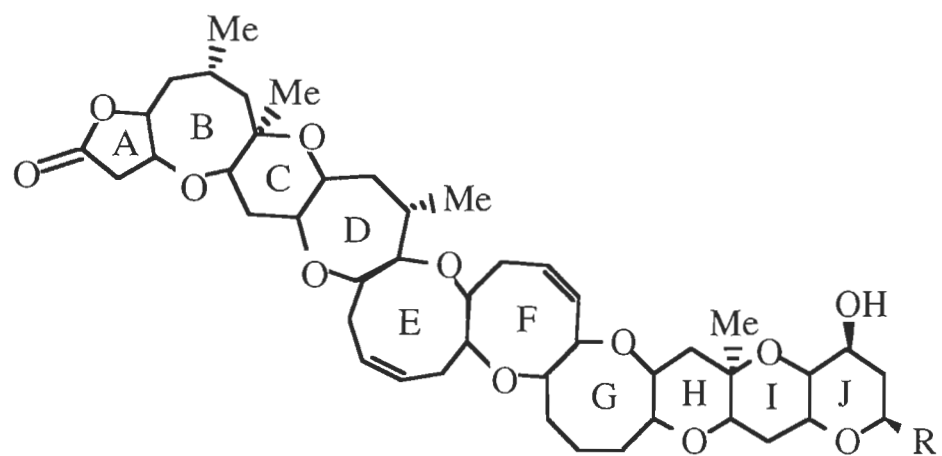
Finalement la SETI demande un temps énorme avant l'obtention d'un spectre. Tout d'abord la fabrication de jonctions avec conducteurs évaporés sous vide demande plus de manipulations et de temps que, par exemple, la spectroscopie infrarouge qui peut mesurer un soluté en solution. Ensuite lorsque la jonction a la bonne résistivité, les mesurer prennent de 3 à 40 heures pour chaque spectres.

1.2 La brevetoxine

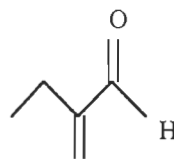
1.2.1 La nature de la brevetoxine

Les brevetoxines (PbTx) sont des toxines marines que produisent annuellement les marées rouges de la Floride. L'éclosion massive des algues *Gymnodinium breve* laisse s'échapper la brevetoxine qui tue massivement les poissons et mollusques. Après l'éclosion des algues dans le golfe du Mexique, la marée est emportée par le courant marin (Gulf Stream) et continue sa croisière meurtrière jusqu'aux côtes de la Virginie. Les mollusques qui portent cette toxine se retrouvent dans la chaîne alimentaire et causent des problèmes neurologiques qui peuvent être dangereux pour les humains. Les brevetoxines sont neurotoxiques et elles se fixent sur un site spécifique et unique du canal à sodium. Leur effet peut être dévastateur pour les humains même en petites doses, toutefois aucune mort humaine n'a été causée par les brevetoxines. Les brevetoxines ont des toxicités mortelles (LD_{100}) aussi faible que 3 ng/ml [23].

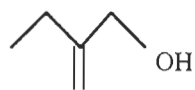
Il existe 9 variantes naturelles des brevetoxines notées PbTx-1 à PbTx-10. La PbTx-4 n'existe plus car elle avait été mal assignée et confondue avec un dérivé de la PbTx-3. Les PbTx-1, 7 et 10 ont la même structure chimique, appelée structure A (Figure 1.1), avec comme seul changement leur terminaison. Les autres PbTx ont une structure B, cette structure chimique est détaillée à la figure 1.2. La structure des brevetoxines est composée d'hétérocycles oxygénés à 5, 6, 7, 8 et 9 chaînons [24].



PbTx-1 R :



PbTx-7 R :



PbTx-10 R :

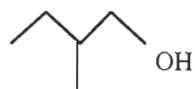


Figure 1.1 Structure des brevetoxines du type A.

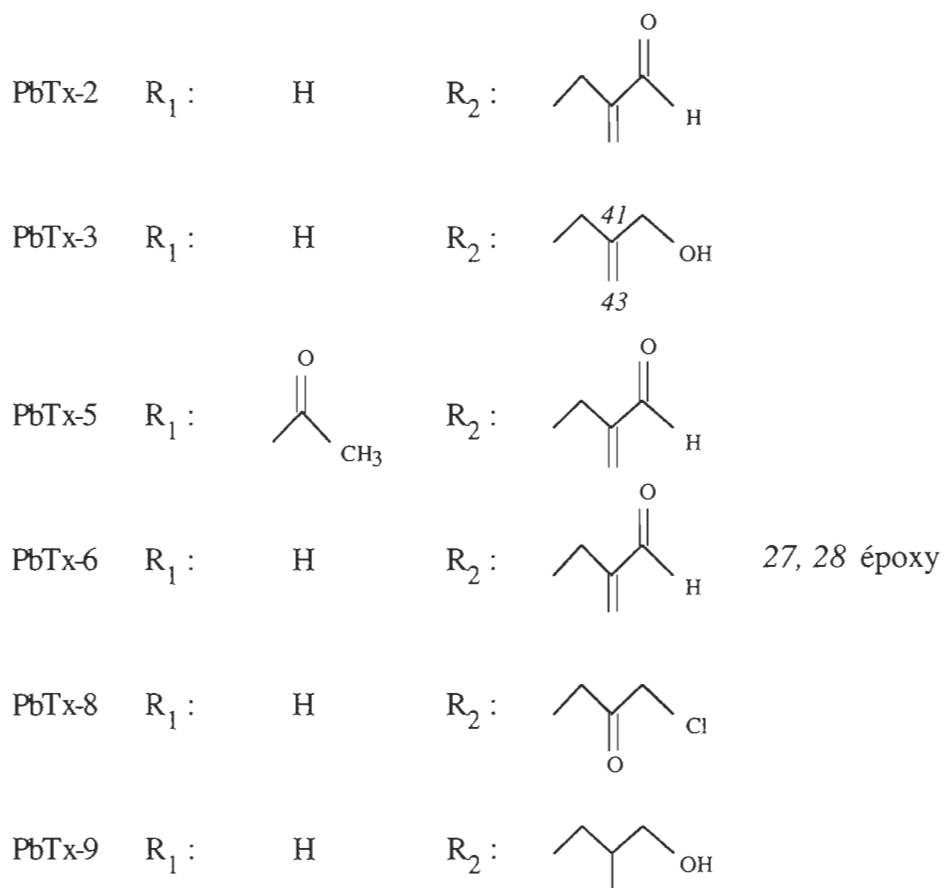
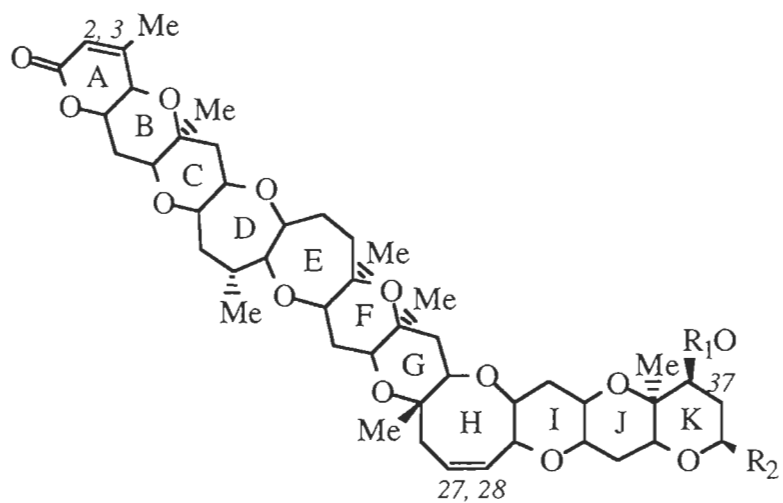


Figure 1.2 Structure des brevetoxines du type B.

1.2.2 Les recherches sur la brevetoxine

Depuis les années 80, plusieurs groupes de recherche purifient les brevetoxines afin de déterminer leur action physiologique et biologique. La structure de la première brevetoxine fut déterminée en 1981 par Lin *et al.* [24]. L'action des brevetoxines sur la protéine servant à régulariser le passage des ions sodium à travers la membrane des cellules fut étudiée par Sharkey *et al.* [25] et par Catterall et Gainer [26]. La protéine est appelée VSSC (Voltage-Sensitive Sodium Channel) et fut isolée des cerveaux de rats par une technique développée par Poli *et al.* [27] en 1986. Le site d'attachement de la brevetoxine sur le VSSC n'est pas encore bien déterminé, toutefois, Catterall [28] a montré que l'attachement des PbTx se fait sur le site 5 de l'unité α [29] du VSSC. Le site 5 n'est pas connu, mais les études ont montré que la ciguatoxine (toxine marine se retrouvant dans l'océan Pacifique) s'attache sur ce même site du VSSC.

1.2.3 La SETI révèle la brevetoxine

Aucun spectre vibrationnel de la brevetoxine n'avait été publié jusqu'à présent dû aux faibles quantités de brevetoxines disponibles. Nous avons montré que la SETI était l'outil approprié pour l'investigation des modes de vibration des brevetoxines [30]. Nous avons comparé les spectres SETI de la PbTx-2, PbTx-3, PbTx-9 et de la PbTx-3 réduite. Dans cette dernière brevetoxine, les doubles liens C=C ont été remplacés par des liens

simples C–C. Nos recherches ont montré que les spectres vibrationnels des PbTx sont fortement influencés par la chaîne terminale des différentes toxines étudiées.

Aucun spectre UV-visible n'avait été publié jusqu'à présent. Dans le même ouvrage [30], nous présentons les spectres d'absorption UV-visible de la PbTx-2 et de la PbTx-3. Les deux toxines ont des bandes d'absorption à 194 et 239 nm dû à une transition π - π^* de la liaison C=O de la fonction lactone pour la première et la transition n- π^* des électrons de l'oxygène de la même fonction. La PbTx-2 montre une bande d'absorption à 208 nm dû à la fonction aldéhyde de la terminaison.

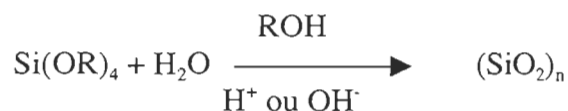
1.3 L'octadécyltriméthoxysilane

1.3.1 Les sol-gels

Une des grandes révolutions dans la science des matériaux modernes fut celle de la découverte d'un nouveau procédé de fabrication de verres, nommé procédé sol-gel [31]. Le procédé sol-gel développé pour la fabrication de verres est en deux étapes, la première étant une étape de polymérisation de monomères à température ambiante donnant un verre poreux, puis une seconde étape de chauffage à plusieurs centaines de degrés Celsius permettant de fermer les pores et d'obtenir un verre de bonne qualité. Ce procédé permet la construction de verre à coûts moindres car moins d'énergie thermique est employée pour la fabrication [32]. Un autre avantage du procédé sol-gel est la possibilité d'obtenir des verres

ou matériaux ayant des propriétés variables, ce qui n'était pas possible d'obtenir par les méthodes classiques de fabrication du verre [33].

Les verres se forment suivant la réaction chimique suivante :



avec $\text{R} = \text{CH}_3$ ou $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}_3$. Les verres produits par cette technique peuvent avoir des propriétés telles a) un grand rapport surface sur volume, b) une faible densité, c) des petits pores, d) une transparence au visible et à l'UV, e) la possibilité d'obtenir différentes formes tels des films minces et f) une bonne stabilité thermique, chimique et photochimique. De plus, le développement du procédé sol-gel a donné naissance à de nouveaux matériaux tels les xérogels qui sont produits par extraction du solvant, et les aérogels qui eux sont produits par évaporation du solvant. Étudions les mécanismes de polymérisation des monomères par le procédé sol-gel.

1.3.2 Les mécanismes de polymérisation des sol-gels

Les sol-gels sont des composés qui peuvent se polymériser à température ambiante par une réaction d'hydrolyse suivie d'une seconde réaction de condensation. Cette réaction est schématisée à la figure 1.3.

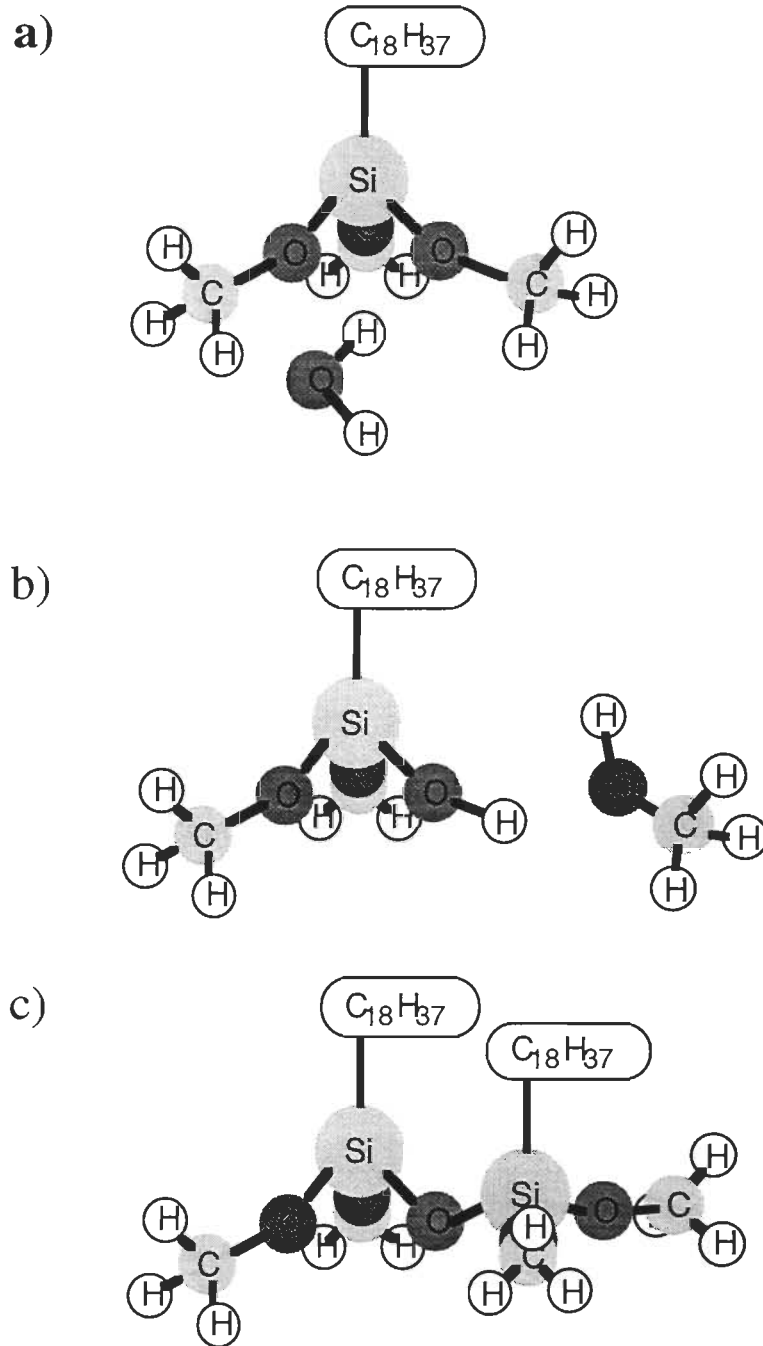


Figure 1.3 Réaction de polymérisation de l'octadécyltriméthoxysilane (ODTMS).

a) ODTMS sur l'eau, b) ODTMS après hydrolyse, c) ODTMS polymérisé après condensation.

Dans le cas de l'octadécyltriméthoxysilane (ODTMS ou C₁₈TMS) en monocouche, la réaction d'hydrolyse est la suivante :



Cette réaction est rapide et elle se produit lors du contact de la solution de C₁₈TMS avec la sous-phase. Par la suite, le C₁₈TMS peut être condensé suivant la réaction :



Cette réaction est contrôlée par le pH de la sous-phase.

Le contrôle des réactions dans les sol-gels est critique car il permet aux monomères en solution de modifier leur structure chimique par une réaction d'hydrolyse. Dans le cas du C₁₈TMS, une ou plusieurs des terminaisons méthoxy (OCH₃) attachées à l'atome Si est remplacée par un OH. Puis une seconde réaction de condensation permet la polymérisation des monomères formant des liaisons Si–O–Si et laissant s'échapper une molécule H₂O. Dans le cas de la polymérisation bidimensionnelle à l'interface air-eau, cette molécule d'eau rejetée n'intervient pas dans la polymérisation d'autres molécules. Toutefois, cette molécule d'eau produite peut nuire à la polymérisation tridimensionnelle, et dans un tel cas, le taux d'humidité du sol-gel doit être contrôlé.

1.3.3 La SETI au secours des sol-gels

Afin de comprendre les mécanismes complexes d'hydrolyse et de condensation des sol-gels, il est souhaitable de pouvoir étudier un modèle simplifié. La réaction de polymérisation des sol-gels dans notre cas est réduit en un système bidimensionnel à l'interface air-eau, ce qui rend l'étude des sol-gels plus simples que dans le cas d'une polymérisation tridimensionnelle [34]. Malheureusement il est difficile d'étudier des systèmes bidimensionnels par les techniques spectroscopiques usuelles, tandis que la SETI est l'appareil tout désigné pour étudier ces systèmes.

Nous avons confirmé par SETI que la réaction de condensation est influencée par le pH de la sous-phase. Nous avons étudié les réactions produites à l'interface air-eau à des pH variant de 1.3 à 3.8 [35] et de 5.7 à 11.3. L'assignation des bandes vibrationnelles SETI nous a permis de montrer qu'il y a polymérisation du $C_{18}TMS$, et cette polymérisation est facilement détectable car elle produit une bande de basse énergie vibrationnelle dans le spectre.

RÉFÉRENCES DU CHAPITRE 1

- 1- Fowler, R. H. et L. Nordheim (1928) *Proc. Roy. Soc. (London)* **A.119**, 173.
- 2- Frenkel, J. (1930) *Phys. Rev.* **36**, 1604.
- 3- Sommerfeld, A. et H. Bethe (1933) *In Handbuch der Physik*. Edited by S. Flugge. Springer, Berlin, p. 150.
- 4- Esaki, L. (1957) *Phys. Rev.* **109**, 603.
- 5- Giaever, I. (1960) *Phys. Rev. Lett.* **5**, 147.
- 6- Giaever, I. (1960) *Phys. Rev. Lett.* **5**, 464.
- 7- Giaever, I. et K. Megerle (1960) *Phys. Rev.* **122**, 1101.
- 8- Giaever, I., H. R. Hart Jr. et K. Megerle (1962) *Phys. Rev.* **126**, 941.
- 9- McMillan, W. L. et J. M. Rowell (1966) *Phys. Rev. Lett.* **16**, 453.
- 10- Josephson, B. D. (1962) *Phys. Rev. Lett.* **1**, 251.
- 11- Cooper, L. N. (1956) *Phys. Rev.* **104**, 1189.
- 12- Anderson, P. W. et J. M. Rowell (1963) *Phys. Rev. Lett.* **10**, 230.
- 13- Jaklevic, R. C. et J. Lambe (1966) *Phys. Rev. Lett.* **17**, 1139.
- 14- Binnig, G., H. Rohrer, Ch. Gerber et K. Weibel (1982) *Appl. Phys. Lett.* **40**, 178.
- 15- Binnig, G., H. Rohrer, Ch. Gerber et K. Weibel (1982) *Appl. Phys. Lett.* **49**, 57.
- 16- Hipps, K. W. et U. Mazur (1993) *J. Phys. Chem.* **97**, 7803.
- 17- Baden, D. G. (1989) *FASEB J.* **3**, 1807.

- 18- Mallik, R. R., T. Butler Jr., W. J. Kulnis Jr. et B. DeVier (1993) *J. Appl. Phys.* **73**, 2347.
- 19- Mallik, R. R., W. J. Kulnis Jr. et T. Butler Jr. (1991) *J. Appl. Phys.* **70**, 3703.
- 20- Mallik, R. R., S. Anabtawi, B. Moore et T. A. Hartman (1997) *Surf. Sci.* **380**, 124.
- 21- Hansma, P. K. et M. Parikh (1975) *Science* **188**, 1304.
- 22- Brousseau, J.-L., K. Tian, S. Gauvin, R. M. Leblanc et P. Delhaès (1993) *Chem. Phys. Lett.* **202**, 521.
- 23- Nakanishi, K. (1985) *Toxicon* **23**, 473.
- 24- Lin, Y. Y., M. Risk, S.M. Ray, D. Van Engen, J. Golik, J. C. James et K. Nakanishi (1981) *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 6773.
- 25- Sharkley, R. G., E. Jover, F. Couraud, D. G. Baden et W. A. Catterall (1987) *Mol. Pharmacol.* **31**, 273.
- 26- Catterall, W. A. et M. Gainer (1985) *Toxicon* **23**, 497.
- 27- Poli, M. A., T. J. Mende et D. G. Baden (1986) *Mol. Pharmacol.* **30**, 129.
- 28- Catterall, W. A. (1992) *Physiol. Rev.* **72**, S15.
- 29- Patlak, J. (1991) *Physiol. Rev.* **71**, 1047.
- 30- Brousseau, J.-L., N. Vibet, R. M. Leblanc, K. S. Rein et D. G. Baden (1998) *Appl. Spectrosc.* **52**, 523.
- 31- Scherer, G. et J. Brinker *Sol-Gel Science*, Academic Press, San Diego (1990).
- 32- Schmidt, H. dans *Glasses and Glass Ceramics from Gels*, Proc. Int. Workshop, *J. Non-Cryst. Solids*, S. Sakka, Ed. 1988.

- 33- Scherer, G. W. dans Glasses and Glass Ceramics from Gels , Proc. Int. Workshop,
J. Non-Cryst. Solids, S. Sakka, Ed. 1988.
- 34- Vidon, S. et R. M. Leblanc (1998) *J. Phys. Chem.* **102**, 1279.
- 35- Brousseau, J.-L., S. Vidon et R. M. Leblanc (1998) *J. Chem. Phys.* **108**, 7391.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 Le spectromètre

2.1.1 Les généralités

Les spectromètres à effet tunnel utilisés pour les expériences de spectroscopie vibrationnelle sont des appareils conçus et fabriqués dans notre laboratoire. Lors des recherches, nous avons utilisé deux spectromètres. Le premier devenant désuet et bruyant, il fallut en construire un second. Leur conception et leur mise au point font l'objet de la thèse de S. Gauvin (voir références Gauvin et Leblanc, 1991 et 1992), ainsi que d'une publication à venir de J.-L. Brousseau et R. M. Leblanc.

Décrivons les appareils spectrométriques et leurs composants. En premier lieu, nous avons la jonction qui contient le matériel à étudier. Ensuite, viennent le coeur du spectromètre, soit un oscillateur, le circuit électronique et l'amplificateur synchrone. Finalement, l'appareil spectrométrique est composé de systèmes de traitement des données,

soit une table traçante et/ou un ordinateur interfacé. Étudions maintenant le circuit électronique.

2.1.2 Le circuit détaillé du spectromètre

Pour les deux spectromètres SETI, le coeur de l'appareil spectrométrique est un circuit électronique que nous avons réalisé. La compréhension de ce circuit est indispensable à la compréhension de la propagation des signaux dans l'appareil. Il est divisé physiquement en sections, toutes isolées les unes des autres par des divisions en métal agissant comme cages de Faraday. Le circuit est alimenté par la tension secteur. On y retrouve une entrée pour un signal oscillant à 1 kHz. Dans le cas du « vieux » spectromètre le signal venait d'un générateur de fréquence (Krohn-Hite model 4000A, Cambridge, MA) tandis que le « nouveau » spectromètre recevait son signal directement de l'amplificateur synchrone (Stanford Research Systems model SR810, DSP Lock-In Amplifier, Sunnyvale, CA). Une rampe de tension alimentée par des piles au plomb est incluse dans le « vieux » spectromètre tandis que le « nouveau » spectromètre utilise des fonctions de l'amplificateur synchrone pour générer la rampe de tension. Les spectromètres comportent aussi une entrée/sortie pour relier la jonction au circuit. Le plan général de fonctionnement est le même pour les deux spectromètres et il est présenté à la figure 2.1.

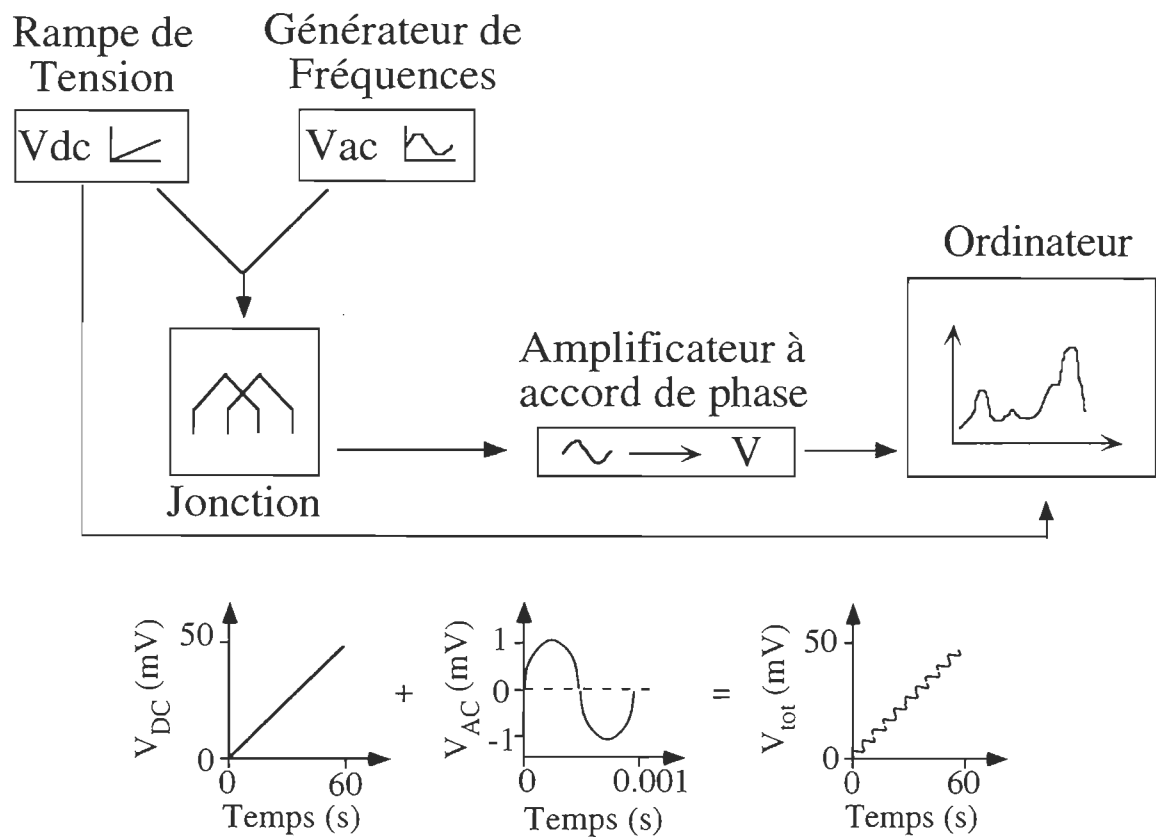


Figure 2.1 Propagation des signaux dans les spectromètres.

Les détails des circuits des spectromètres sont présentés à la figure 2.2 et à la figure 2.3 pour le « vieux » et le « nouveau » spectromètre respectivement. On note que le nouveau spectromètre est moins chargé et comporte moins de pièces ce qui le rends plus stable et moins prône au bruit. De plus le « vieux » spectromètre utilisait des piles qui fournissaient la rampe de tension. Ces piles pouvaient fournir l'alimentation pendant 6 à 8 heures, avant devoir être rechargées pendant plusieurs heures.

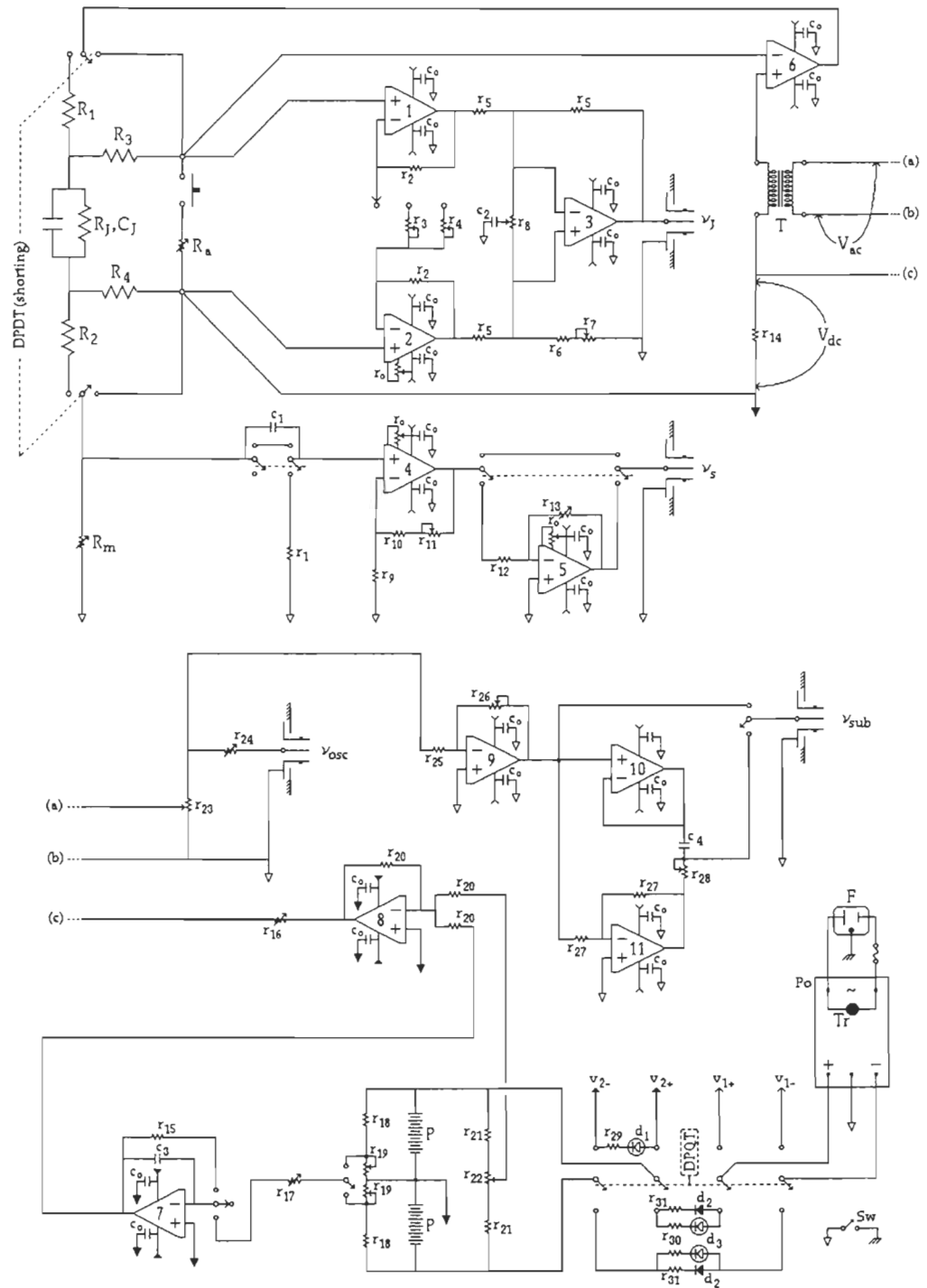


Figure 2.2 Circuit détaillé du spectromètre (Gauvin et Leblanc, 1992).

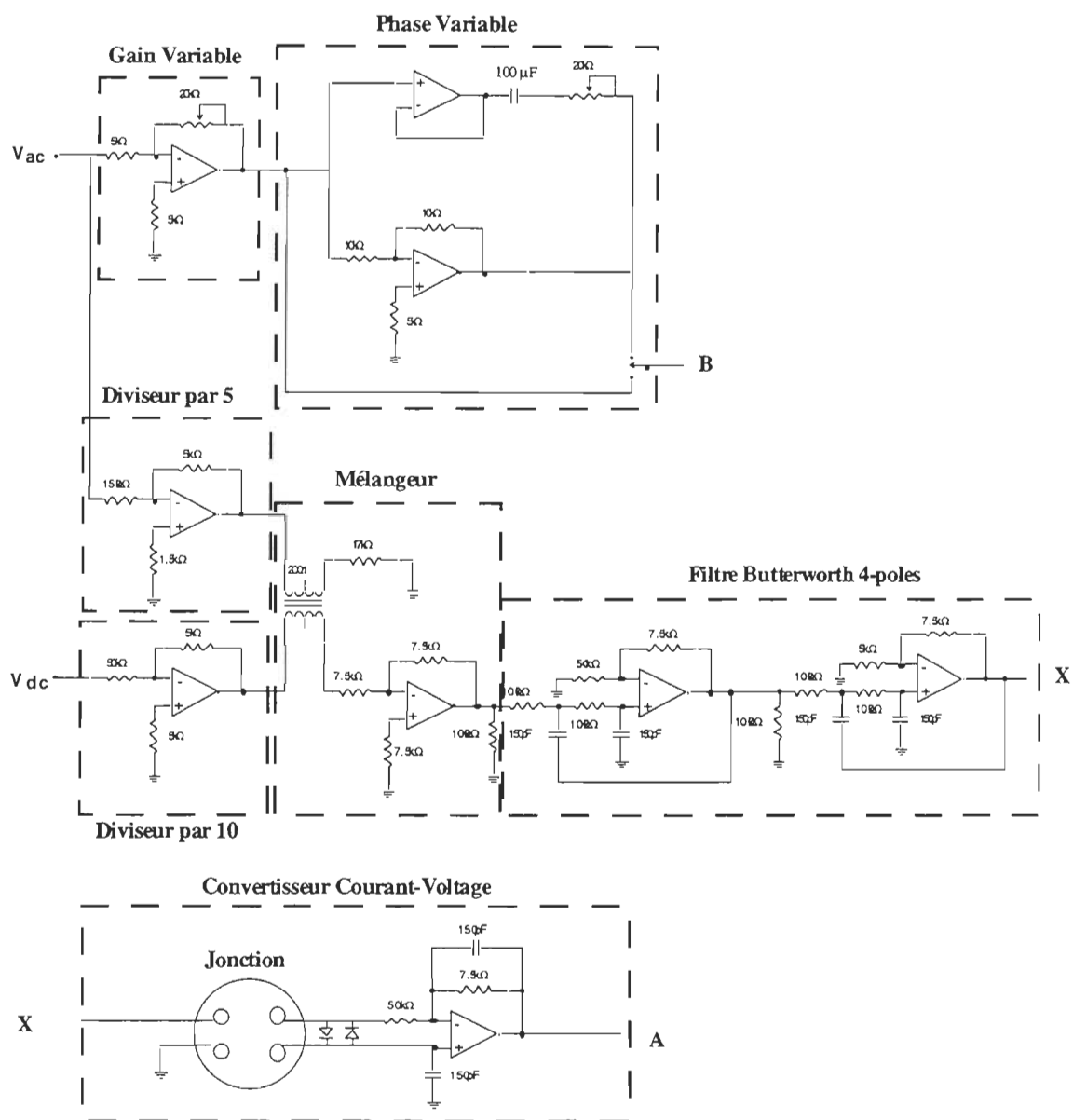


Figure 2.3 Détails électronique du nouveau spectromètre.

Suivons la propagation des signaux dans les spectromètres tel que montré à la figure 2.2 et 2.3. En premier lieu, un module reçoit la fréquence modulée de l'oscillateur, v_{osc} , ou V_{ac} dans le cas du nouveau spectromètre, qu'il atténue à une tension variant entre 0 et 100 mV_{rms} . Pour les deux spectromètres, ce signal a deux utilités. i) De fournir une tension alternative variable en phase et en amplitude qui sera envoyée à l'amplificateur synchrone. Ce signal est noté v_{sub} dans le cas du « vieux » spectromètre et simplement B dans le cas du « nouveau » spectromètre. ii) La seconde utilité de la tension de modulation est de permettre la mesure de la jonction. Ce signal sera donc ajouté à la rampe de tension avant d'être envoyé à la jonction. Le « vieux » spectromètre utilise une rampe de tension asservie et à tension variable. Différentes tensions de balayage variant entre $\pm 20\text{ mV}$ et $\pm 10\text{ V}$ peuvent être sélectionnées. Le circuit permet aussi de varier la vitesse de balayage de 3 minutes à 3 heures pour un seul balayage. Pour le « nouveau » spectromètre, la tension de balayage ou rampe de tension est contrôlée par l'ordinateur et est issue de l'amplificateur synchrone et envoyé dans le spectromètre par l'entrée V_{dc} . Pour les deux spectromètres, les signaux alternatifs et continus sont additionnés de la même façon soit en envoyant le signal continu à travers une bobine transformatrice qui elle est soumise à une tension variable. La sortie de ce signal est appliquée à la jonction. La tension appliquée à la jonction est lue par des modules semblables pour les deux spectromètres. Un convertisseur courant-tension avec sortie à haute impédance est utilisé pour passer le signal, v_{sac} , aux autres composantes du spectromètre. Pour des raisons de commodités, le circuit d'amplification final des deux spectromètres est muni d'un

amplificateur et d'un filtre passe-haut optionnel. Ces signaux de sortie sont ensuite passés à l'amplificateur synchrone.

2.1.3 L'appareil spectrométrique

Les quatre principaux signaux du spectromètre sont : (i) les fréquences oscillantes, v_{osc} , ou V_{ac} venant de l'oscillateur; (ii) v_{sub} , ou B, qui est essentiellement v_{osc} amplifié et déphasé; (iii) v_j qui est la tension appliquée à la jonction et (iv) v_{sac} , ou A, qui est une tension correspondante au courant circulant dans la jonction.

L'amplificateur synchrone a comme référence v_{osc} . Afin d'obtenir la seconde dérivée du courant par rapport à la tension appliquée, nous avons besoin de soustraire à v_{sac} (ou A) le signal oscillant qui est de trois à quatre ordres de grandeur plus élevé que le signal à mesurer. Pour ce faire, on doit entrer v_{sub} (ou B) dans l'amplificateur synchrone qui fera la soustraction des deux fréquences préalablement ajustées à une même tension alternative et à une même phase. Cet ajustement est effectué à l'aide d'un oscilloscope à deux canaux (B&K-Precision/ Dynascan modèle 2120, Chicago, IL). Le signal résultant de l'amplificateur synchrone peut maintenant être mesuré directement par l'ordinateur.

2.1.4 L'acquisition des spectres

Le fonctionnement du « vieux » spectromètre demande une conversion du signal de sortie analogique de l'amplificateur synchrone en un signal numérique. Pour ce faire le signal de l'amplificateur synchrone est envoyé dans un amplificateur filtre afin de rendre les tensions compatibles avec la carte de conversion analogique-numérique. De plus, comme le système informatique comporte un bruit à haute fréquence qui pourrait perturber l'amplificateur synchrone et même le spectromètre, le signal doit donc être filtré avant d'entrer dans la carte d'acquisition. Le détail du circuit électronique des amplificateurs et filtres actifs à deux pôles est donné à la figure 2.4.

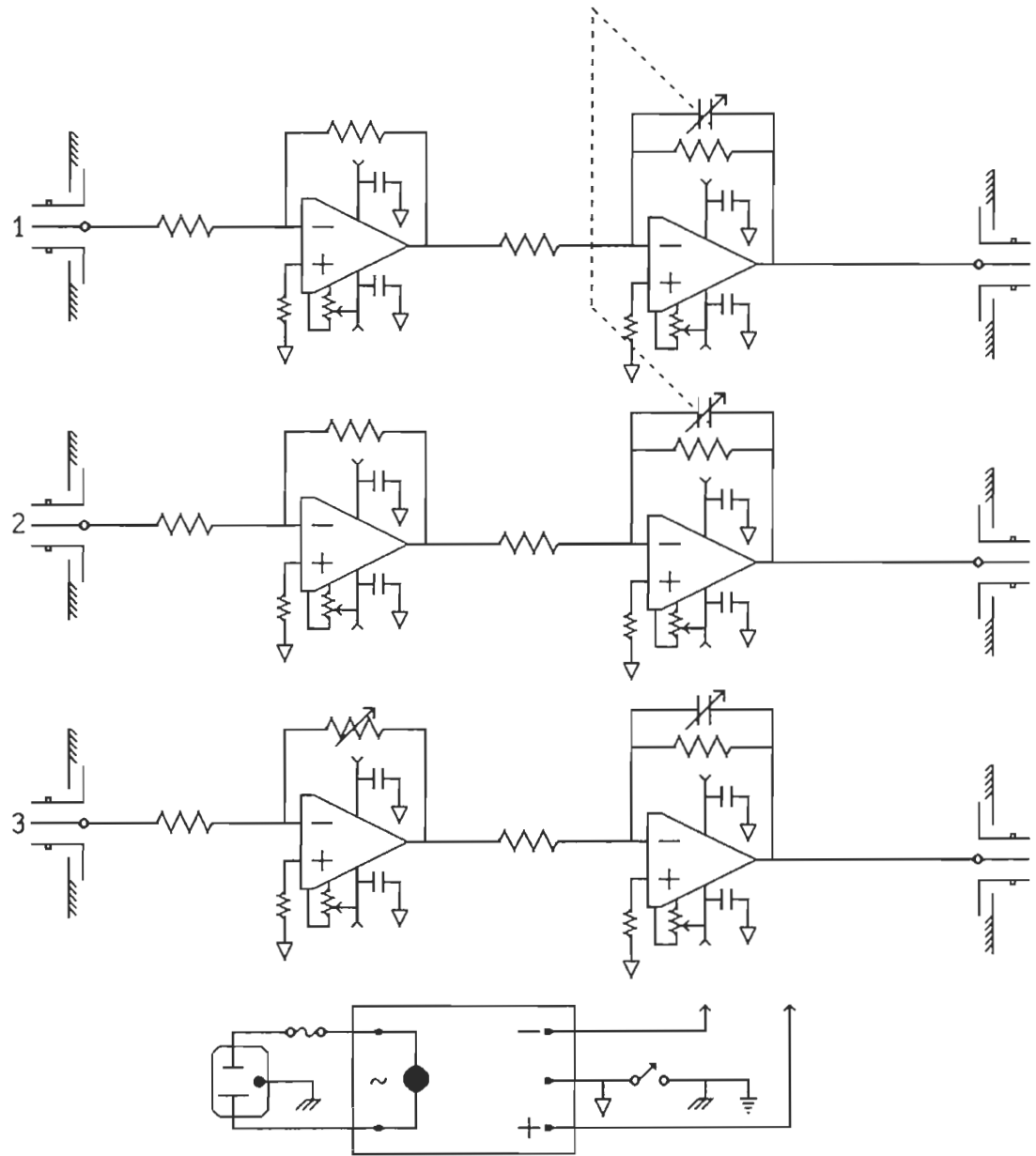


Figure 2.4. Détail du circuit électronique des amplificateurs et filtres.

L'appareil de conversion analogique-numérique est une carte DAS-8 à précision de 12 bits de Keithley-Metrabyte (Cleveland, OH). Cette carte est insérée à l'intérieur d'un

ordinateur IBM PS/2 modèle 30 (Valhalla, NY) doté d'un processeur 80286 ainsi que d'un coprocesseur mathématique 80287 d'Intel (Hillsboro, OR) afin d'accélérer les calculs. L'ordinateur est doté de 2 MB de mémoire RAM ainsi que d'un disque dur de 30 MB.

Un programme d'acquisition de données appelé SPEC a été réalisé afin de récupérer les spectres. Il est conçu spécialement pour l'appareil de spectroscopie par effet tunnel. Pour chaque valeur de V_j , le programme moyenne la valeur reçue sur l'axe des Y, soit V_{sR1} , V_{sR2} ou les deux. Ainsi, on intègre sur un point afin de diminuer le bruit. SPEC permet aussi de faire la moyenne de plusieurs spectres pris en balayant plusieurs fois. Les données sont sauvegardées sous forme X-Y conventionnelle et elles sont corrigées en tenant compte des gains de tous les amplificateurs du système spectrométrique.

Le fonctionnement du « nouveau » spectromètre est grandement simplifié. Le signal de sortie de l'amplificateur synchrone ainsi que la tension appliquée peuvent être lues numériquement par l'ordinateur à l'aide de la communication du port série. L'utilisation de ce port et du langage protocolaire de l'amplificateur synchrone élimine le besoin d'une conversion numérique du signal analogique de plus les filtres ne sont plus nécessaires car l'entrée du port série est construite afin de générer un minimum de bruit au près de l'amplificateur synchrone.

Il a fallu ici encore écrire un programme qui gère la rampe de tension demandée à l'amplificateur synchrone. De plus ce programme nous permet de récolter les spectres qui sont balayés par le spectromètre.

2.1.5 Le traitement des spectres

Les spectres sauvegardés par SPEC sont récupérables par la plupart des programmes commerciaux. Nous utilisons le programme Spectra Calc de Galactic Industries Corporation (Salem, NH) afin de visionner rapidement les spectres acquisitionnés. Ce programme permet aussi de comparer et de traiter mathématiquement les spectres. Cependant, pour cette thèse, les données X-Y ont été exportées sur un appareil de type Power Macintosh 7100 (Cupertino, CA). Les données ont été annotées et présentées en utilisant le programme KaleidaGraph de Synergy Software (Reading, PA).

2.2 Les jonctions

2.2.1 Le substrat

Le substrat utilisé pour la fabrication des jonctions est une simple lamelle de microscope recoupée sur la longueur à un centimètre. Son dessin original (Gauvin et

Leblanc, 1991) permet de brancher cette lamelle dans un connecteur de carte et de tremper le tout à 4.2 K dans l'hélium liquide. Une lamelle de microscope ordinaire serait trop large pour entrer par le goulot de notre contenant à hélium liquide (Minnesota Valley Engineering model USHE 30, New Prague, MN). Le dessin du substrat et du connecteur est montré à la figure 2.5.

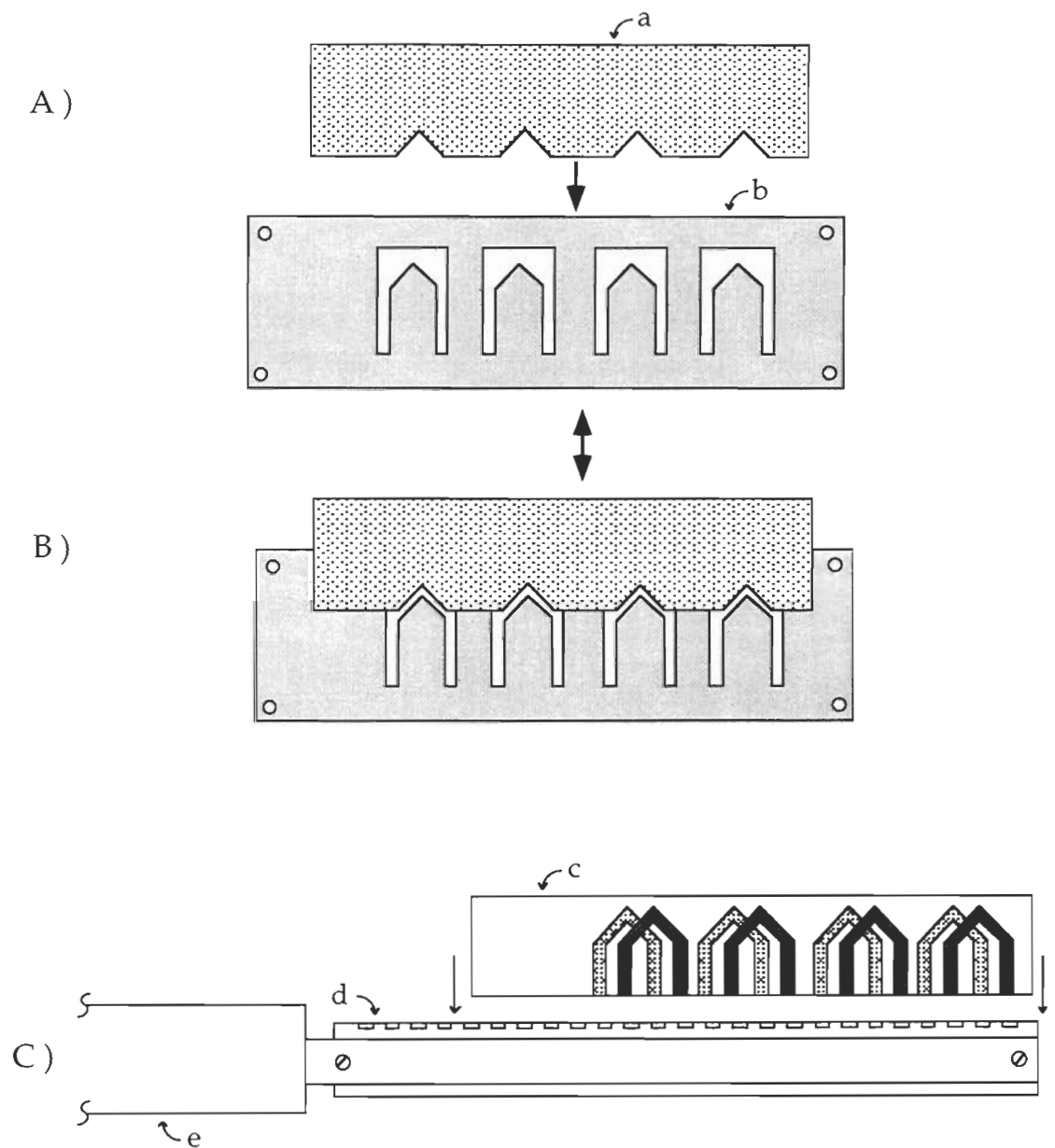


Figure 2.5. Diagramme du masque (A et B) et du substrat avec le connecteur (C).

a) masque mobile, b) masque fixe, c) substrat, d) connecteur de carte, e) long tube à paroi mince.

2.2.2 Les conducteurs

Les conducteurs pour construire la jonction sont l'aluminium et le plomb. Les jonctions sont du type Al / Al₂O₃ / Produit / Pb. Tel que montré à la figure 2.4, quatre jonctions sont préparées à la fois sur le même substrat. La première électrode d'aluminium (Al, 99.999%, Johnson Matthey/AESAR, Toronto, ON) est évaporée avec une épaisseur d'environ 1 000 Å. L'évaporation se fait dans un système à vide fonctionnant totalement sans huile afin d'éviter les contaminations organiques. La pression avant toutes les évaporations était inférieure à $5 \cdot 10^{-7}$ Torr. La vitesse d'évaporation était tenue à une vitesse variant entre 30 et 50 Å s⁻¹. L'épaisseur ainsi que la vitesse d'évaporation étaient vérifiées pendant toute l'évaporation à l'aide d'un moniteur d'épaisseur (TM-100, Maxtek Inc., Torrance, CA).

L'aluminium déposé, le vide était brisé rapidement en laissant de l'oxygène pur dans le système à vide. La jonction était exposée pour une période de deux à trois minutes à l'air libre. L'humidité de la pièce était toujours moins de 70%.

La seconde électrode, celle de plomb (Pb, 99.992%, J. T. Baker Inc., Philipsburg, NJ) était évaporée avec une épaisseur d'environ 2 000 Å à température ambiante.

L'évaporation se fait dans le même système à vide avec une pression initiale inférieure à $5 \cdot 10^{-7}$ Torr. La vitesse d'évaporation était tenue à moins de 10 \AA s^{-1} .

2.2.3 Les méthodes de déposition du produit

Plusieurs méthodes auraient pu être utilisées pour déposer le produit sous étude. Pour des raisons de commodité, de rapidité et de simplicité, la brevetoxine a été déposée par tournoiement. La méthode est fort simple. Après que la jonction soit sortie du vide, elle est placée dans une centrifugeuse. Une goutte de solution est déposée sur chaque électrode d'aluminium oxydé. Le matériel en excès est enlevé en centrifugeant le substrat pendant environ 20 secondes à environ 4 000 tours minute⁻¹. La jonction était ensuite remise sous vide immédiatement afin de recevoir l'électrode de plomb.

Pour ce qui est des jonctions fabriquées pour l'étude de l'ODTMS, la méthode de déposition utilisée est celle de Langmuir-Schaefer. Pour cette technique une compression Langmuir a été faite puis la jonction en fabrication a été déposée à la surface de la monocouche Langmuir. De ce fait la monocouche compressée et organisée est déposée sur l'oxyde d'aluminium. Un rinçage de la monocouche est effectué avec de l'alcool absolu afin de limiter l'oxydation de l'aluminium et de garder la résistance de la jonction assez basse pour pouvoir être mesurée.

2.2.4 Les mesures de résistance

Après avoir complété la jonction de type sandwich, le substrat était remis à la pression ambiante et plongé rapidement dans l'azote liquide afin de préserver la jonction du vieillissement. La résistance des jonctions était ensuite mesurée à l'aide d'un nano-ampèremètre (Gencom Nanoammeter Model 911, Plainview, NY). La résistance idéale pour obtenir un bon spectre vibrationnel était de $100\ \Omega$. Toutefois, des jonctions ayant des résistances entre 10 et $8\ 000\ \Omega$ pouvaient être mesurées, au détriment de la qualité du signal.

RÉFÉRENCES DU CHAPITRE 2

- 1- Gauvin, S. et R. M. Leblanc (1991) *Rev. Sci. Instrum.* **62**, 544.
- 2- Gauvin, S. et R. M. Leblanc (1992) *Rev. Sci. Instrum.* **63**, 149.

3 ARTICLES PUBLIÉS

3.1 UV-Visible and Inelastic Electron Tunneling Spectroscopies of Brevetoxines

Cet article à été publié dans le journal « Applied Spectroscopy », Volume 52, pages 523-527, 1998.

Les auteurs sont : J.-L. Brousseau, N. Vibet, R. M. Leblanc, K. S. Rein et D. G. Baden.

La contribution des auteurs est la suivante :

J.-L. Brousseau	80%	La plupart du travail
N. Vibet	5%	Spectres UV-Visible
R. M. Leblanc	5%	Directeur de thèse
K. S. Rein	5%	Synthèse des brevetoxines
D. G. Baden	5%	Directeur de K. S. Rein

UV-visible and inelastic electron tunneling spectroscopies of brevetoxins.

J.-L. Brousseau¹, N. Vibet¹, R. M. Leblanc^{1*}, K. S. Rein² and D. G. Baden²

¹*Department of Chemistry, University of Miami, 1301 Memorial Drive,
Coral Gables, Florida 33124, USA*

²*Marine and Freshwater Biomedical Sciences Center,
Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science,
University of Miami, 4600 Rickenbacker Causeway, Miami, Florida 33149, USA*

* Author to whom correspondence should be addressed.

ABSTRACT

We have studied the UV-Vis and vibrational spectra of the brevetoxins PbTx-2, PbTx-3, PbTx-9 and 2, 3, 27, 28, 41, 43 - hexahydro - (reduced) PbTx-3. The absorption at 194 nm ($\epsilon \approx 18\,000\text{ l mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$) of PbTx-2 and PbTx-3, is assigned to the π - π^* transition of the lactone conjugated double bonds. The n - π^* transition of the lactone is seen at 239 nm ($\epsilon \approx 2\,800\text{ l mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$). The absorption band at 208 nm for PbTx-2 is assigned to the conjugated double-bonds of the aldehyde function located on the K-ring sidechain. The inelastic electron tunneling spectra of PbTx-2, PbTx-3, PbTx-9 and fully reduced PbTx-3 is presented and the vibrational bands are assigned. We show that inelastic electron tunneling spectroscopy can be used to monitor and measure the vibrational fingerprint of the brevetoxins at a level as low as 1 ng.

Index Headings: *Gymnodinium breve*; Brevetoxin; PbTx-2; PbTx-3; PbTx-9; Toxin; Absorption; UV-visible; spectroscopy; Vibrational spectroscopy; Inelastic electron tunneling spectroscopy; IETS.

INTRODUCTION

Brevetoxins are the toxic compounds produced by the Florida red tide dinoflagellate *Gymnodinium breve* (formerly *Ptychodiscus brevis*).¹ Blooms of this organism result in massive fish kills and the release of a respiratory irritant.² Furthermore, filter feeding shellfish can concentrate the causative agent and when consumed by humans results in neurotoxic shellfish poisoning, a syndrome whose symptoms in human have been quite well characterized.³ At least thirty-five blooms have been reported⁴ since the first documented incidence of the Florida red tide was recorded in 1884.⁵

The toxicity of the brevetoxins results from their ability to alter the membrane properties of excitable cell types. Studies with numerous cell types⁶⁻⁸ reveal that a dose dependent uptake of sodium occurs after toxin application resulting in a dose dependent depolarization, repetitive discharges and ultimately to depression of the action of potential leading to a block of excitability.⁹ The brevetoxins exert their effects by binding to a specific and unique site (site 5) on a voltage-gated sodium ion channel. Indeed specific binding to this site by a radiolabelled brevetoxin has been demonstrated.¹⁰⁻¹¹ The brevetoxin B type toxins bind to this site with K_D 's ranging from 2.5 - 25 nM, while PbTx-1 has a K_D of 1 nM. Furthermore, this site has been localized to domain IV of the α -subunit of the voltage-gated sodium channel by covalent labeling with a brevetoxin photoaffinity

probe.¹² Using the patch clamp technique on neurons dissociated from rat nodose ganglia, it has been established that PbTx-3 shifts activation to more negative membrane potentials (*i.e.* channels may open at normal resting potentials), inhibits inactivation thus increasing mean channel open times, and stabilizes multiple conductance states.¹³

When the structure of the most abundant of the brevetoxins (PbTx-2, Figure 1) was determined by X-ray crystallography, it was found to possess unprecedented features.¹⁴ Specifically, the unique structural features included: a series of *trans* fused cyclic ethers with *syn* stereochemistry on the top and bottom of the molecule; the ether oxygens act as a one atom bridge between rings and each bridge alternates between the top and bottom of the molecule. Brevetoxin A is the first natural product to have 5, 6, 7, 8 and 9 membered rings.¹⁵⁻¹⁶ Since that time, a number of other "polyether ladder" type compounds have been isolated from dinoflagellates. *Gymnodinium breve* produces at least eight polyether ladder toxins. Five of these possess the same backbone as PbTx-2 (brevetoxin B type backbone) (Fig. 1) and four possess the brevetoxin A type backbone. These congeners vary in the structure of their K-ring (B type) or J-ring (A type) side chain.

In this paper, we present the UV-Vis spectra of PbTx-2 and PbTx-3, this gives us information about the electronic properties of the brevetoxins. We also present the vibrational spectra of PbTx-2, PbTx-3, PbTx-9 and fully reduced PbTx-3¹⁷. The UV-Vis

spectrum of PbTx-3 presents a strong absorption band at 194 nm and a weak one at 218 nm. For PbTx-2, the main peak was at 208 nm and shows the absorption of the conjugated double bond of the aldehyde function located on the K-ring sidechain. The π - π^* transition of the lactone function of the A-ring absorbed at 194 nm, while the n - π^* transition absorbed weakly and could only be resolved for PbTx-3.

Since the amounts of PbTx available are very small, we could not use conventional infrared spectroscopic methods to obtain the vibrational spectrum. We used Inelastic Electron Tunneling Spectroscopy (IETS) to record the full spectrum of a few microliters of solution at a concentration of 10^{-4} M. We present the full vibrational spectrum from 200 to $1\,800\text{ cm}^{-1}$ of all four brevetoxins and we show that IETS can be used to determine the fingerprint of each brevetoxin. We also show that the vibrational spectrum is strongly influenced by the different functions on the K-ring sidechain of the brevetoxins.

EXPERIMENTAL

2.1 Brevetoxins

Naturally occurring toxins, PbTx-2, PbTx-3 and PbTx-9 were purified as previously described from cultures of *Gymnodinium breve* by a combination of chloroform and methanol extraction, and TLC.^{8, 18, 19} The preparation of reduced PbTx-3 has been described elsewhere.²⁰

2.2 Absorption spectroscopy

UV-Vis spectra were recorded using a Shimadzu UV-2101 PC (Shimadzu Scientific Instruments Inc., Columbia, MD) double beam spectrophotometer, calibrated using a didymium reference filter. The solvent used was acetonitrile (HPLC grade, Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI) . Extinction coefficients for each absorption band were calculated with the least square method for concentration varying from 2.5×10^{-5} to 5×10^{-4} M using quartz cells with an optical path length of 1, 2, 5 and 10 mm.

2.3 Vibrational spectroscopy

The vibrational spectrum in the 200 - 1 800 cm^{-1} region was recorded using an Inelastic Electron Tunneling Spectrometer. IETS has no strong selection rules like others optical vibrational methods so it gives the full spectrum of the molecules. The spectrometer detects the inelastic energy loss of the electrons that cross a barrier of potential by tunneling effect. The energy needed to trigger a vibrational mode is the same as for conventional spectroscopic techniques, so handbook of IR and Raman characteristic frequencies can be used to assign the vibrational bands.

To measure a spectrum, a sandwich junction was made according to Gauvin and Leblanc.²¹ The junction used was of the type Al / AlO_x / brevetoxins / Pb on a glass microscope slide.²² The aluminum was evaporated under vacuum at a pressure of less than 10^{-7} Torr. The chamber was filled with dry O_2 to return to atmospheric pressure. That process forms a barrier of potential of AlO_x of about 30 Å. We found that allowing air from the room instead of dry O_2 gave us a stronger band in the vibrational spectrum at around 900 cm^{-1} . A microdrop of brevetoxin solution (1×10^{-4} M) was deposited on top of the aluminum oxide. The microscope slide was then spun at 3 000 rpm for 15 seconds. The junction was returned to vacuum for the evaporation of the lead electrode. The completed junction had a square area of 1 mm^2 and a resistance of about 20 Ω . Four junctions per glass slide were made at the same time.

Spectrometer construction has been described elsewhere.²³ The spectra were recorded on an IBM PS/2 computer that controlled the spectrometer with specialized software.²⁴ The spectra of each toxin presented in this paper are an average of 25 scans recorded successively on the same junction, except for PbTx-3, where only 9 scans were averaged. All of the PbTx spectra presented were reproduced at least twice on different microscope slides and all the bands were reproduced with occasional very small band intensity variations. No wavenumber shifts were observed. The signal was demodulated, filtered and amplified by a lock-in amplifier PAR 186 (Princeton Applied Research, Princeton, NJ). The time constant, the gain and the scan rate were 300 ms, 1 mV and $2\text{ cm}^{-1}\text{ s}^{-1}$, respectively. The Vac applied to the junction was 1 mV at a frequency of 1 kHz. For the measurements, the junction was kept in liquid helium at 4.2 K. The resolution of a single scan was 8 cm^{-1} .

We used the program Kaleidagraph (Synergy Software, Reading, PA) to fit a second-degree polynomial baseline to flatten the spectra between $200 - 1\,800\text{ cm}^{-1}$. The deconvolution of the bands in the $1\,330 - 1\,500\text{ cm}^{-1}$ region was performed with the program SpectraCalc (Galactic Industries Co., Salem, NH). A least square iterative curve-fitting with a gaussian band shape was used to fit the experimental spectrum. In this region a baseline was fitted using a linear function. None of the brevetoxin spectra are smoothed or filtered.

The spectrum of a clean junction was recorded before and after the completion of the experiments to ensure a contaminant free process. The junction was of the type Al / AlO_x / Pb. After completion of the first electrode, water was spreaded on the aluminum to have the same oxidation as with the toxin solution. Without this step, the resistance of the junction is too low to be measured at around 0.1 mΩ while the typical resistance of water spreaded junction is in the 0.1 Ω range. For these junction we usually average 2 to 4 spectra, which is enough to reveal any contaminant in the junction. It is not desirable to average more spectra since a low resistance junction releases more heat when measured than a doped junction, wasting some liquid helium. The clean spectrum presented here has been smoothed with a 13 points average, giving an effective resolution of 12 cm⁻¹.

RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Absorption spectroscopy

The UV absorption spectra of PbTx-2 and PbTx-3 are shown in Fig. 2. The spectra presented in this figure have been normalized to have a maximum of 1. For PbTx-3 (Fig. 2a) a strong band is observed in the far UV region at 194 nm. The shape of the band indicates that there are multiple overlapping absorption bands. Brevetoxin has indeed several functions that absorb in this area (11 ether functions, 1 alcohol group, 1 ketone function and 2 double bonds). The deconvolution of the spectrum reveals a weak peak at 239 nm. This band is not resolved for PbTx-2 since it is hidden by the strong peak at 208 nm. The absorption spectrum of PbTx-2 (Fig. 2b) clearly shows a peak at 194 nm. PbTx-3 and PbTx-2 toxins differ only by one function, an alcohol group on the tail vs. an aldehyde group, but their spectra are different in shape. The peak at 194 nm has approximately the same extinction coefficient for both toxins (Table 1). This peak is assigned to a π - π^* transition of the lactone C=O function of the A-ring of all brevetoxins. Indeed, conjugated systems always show high extinction coefficients as reported by Scott.²⁵ The weak band observed for PbTx-3 at 239 nm expresses the n - π^* transition of the oxygen electrons of the lactone function. For PbTx-2, the band at 208 nm is assigned to the aldehyde function.²⁶ This peak is assigned to the strong absorption of the conjugated system. This transition is also observed by Nakanishi.²⁷ The n - π^* transition of the

aldehyde function absorbs around 300 nm and could not be seen in the PbTx-2 spectrum since the absorption is very weak with an extinction coefficient of about $10 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.²⁸ No other functional group of the backbone of the brevetoxin absorbs in the UV-Vis region.

3.2. Vibrational spectroscopy

Fig. 3 shows the IETS vibrational spectrum of PbTx-2, PbTx-3, PbTx-9, and fully reduced PbTx-3 in the $200 - 1800 \text{ cm}^{-1}$ region. We also give the IET spectrum of a clean junction, showing that our blank spectrum does not have contamination, and the other IET spectra are also free of impurities. The band assignment of the 4 brevetoxins are given in Table II.

The broad band at $225 - 325 \text{ cm}^{-1}$ is a feature of IETS and is due to the phonon vibration of the aluminum oxide and the brevetoxins. Studies have shown that these phonon bands are of lower energy, typically below 300 cm^{-1} , and are much stronger than the vibrational bands.²⁹⁻³¹

The first bands assigned in the spectra in the $418 - 466 \text{ cm}^{-1}$ region are due to the backbone structure deformation. For reduced PbTx-3, the band is at lower energy since the H-ring of the backbone does not contain the double bond.^{32, 33} For PbTx-2, and

PbTx-9 this band is broad and could not be easily resolved. The O-H out-of-plane bending of the alcohol function located in the sidechain of the brevetoxins gives a band near 577 cm^{-1} .³⁴ The band does not appear in the PbTx-2 spectrum since it lacks the alcohol function. The C-H in-plane deformation shows a medium strength peak near 616 cm^{-1} . This peak appears on all 4 spectrum since most of the C-H bonds are located in the backbone of the brevetoxins. The C-H out-of-plane bending bands are located near 688 cm^{-1} , while the C-H out-of-plane deformation from the C-CH₂-C function shows a stronger band at higher energy at $718 - 730\text{ cm}^{-1}$.³⁴ The fully reduced PbTx-3 is the only brevetoxin to show a band at 820 cm^{-1} , it is assigned to the deformation of the valerolactone function in ring A that replaces the conjugated lactone function.^{35, 36} The strong broad band in the $875 - 975\text{ cm}^{-1}$ region is due to the Al-O stretching mode of the barrier of potential and is intrinsic to the tunnel junction having aluminum as their first electrode.³⁷ With 6, 7 and 8 membered rings, the C-C-C stretching mode of the fused rings gives rise to multiple bands at $1\,042 - 1\,054\text{ cm}^{-1}$. The C-O-C symmetric stretching with interaction with the methyl group shows as a weak band between $1\,113$ and $1\,126\text{ cm}^{-1}$, while the C-O-C symmetric stretching mode from the rings give a weak band at $1\,154\text{ cm}^{-1}$.^{34,38} The C-H in-plane bending is a weak but sharp band at $1\,214 - 1\,225\text{ cm}^{-1}$. The symmetric stretching of the C-O-C containing ring with and without double bonds give medium to strong bands near $1\,276$ and $1\,290\text{ cm}^{-1}$, respectively. The totally reduced PbTx-3 has no ring with double bonds and its spectrum lacks the band near $1\,276\text{ cm}^{-1}$. The strong C-H bending modes between $1\,320 - 1\,480\text{ cm}^{-1}$ are discussed below.

The fused ring stretching does not give a sharp band but multiple bands in the 1 584 - 1 590 cm^{-1} region.^{34,39} The $\text{C}=\text{CH}_2$ symmetric stretching from the sidechain of PbTx-2 and PbTx-3 is shown by a band at 1 653 cm^{-1} in these spectra.⁴⁰ Fully reduced PbTx-3 and PbTx-9 do not exhibit this band.

We should note that for IETS spectra, the intensity of a band is not due to the number of functional groups in the molecule. No experimental work has been done to explain the intensity of the bands and theoretical models are not reliable, even for simple molecules.^{41,42} Experimental data show that the C-H deformations are usually medium to strong.^{43,44}

The O-H and C-H bending and scissoring modes give strong bands between 1 320 and 1 480 cm^{-1} . A band fitting on the spectra (Fig. 4) showed that there are five bands in this region. The first is due to the C-H bending modes (Table III) and is weak. This band appears on the four spectra of the brevetoxins. The second band is very weak and is due to the O-H bending modes on the $\text{CH}_2\text{-OH}$ group. This band does not appear in the PbTx-2 spectrum since this brevetoxin is the only one studied here that does not have an alcohol function in its sidechain. The C-CH_3 symmetric bending shows as a strong band around 1377 cm^{-1} , this band is slightly shifted on the PbTx-3 spectrum. The C-CH_3 asymmetric

bending also appears as a strong band at a higher vibrational energy. All the four spectra shows that band, but using a recursive least square band fitting program on the experimental PbTx-3 spectrum that has a higher noise level give a second band at $1\,452\text{ cm}^{-1}$. The noise level for PbTx-3 is not a major concern for the lower energies, but the level of noise is known to increase with the energy. The last band fitted is the CH_2 scissoring and is also present in the 4 brevetoxins studied at around $1\,466\text{ cm}^{-1}$.

In summary, the UV-Vis spectra of PbTx-2 and PbTx-3 showed two bands from the A-ring, firstly the $\pi - \pi^*$ transition of the lactone $\text{C}=\text{O}$ function and secondly the oxygen $n - \pi^*$ transition. For the brevetoxin PbTx-2, the aldehyde had a strong band at 208 nm. The assignments of the IETS spectra showed features of the whole structure, the backbone and the sidechain.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was partially funded by a pilot project awarded by the NIEHS Center for Marine and Freshwater Biomedical Sciences at the University of Miami, Grant Number ES05705-DHHS. Acknowledgment is made to the donors of the Petroleum Research Fund, administered by the ACS, for partial support of this research.

REFERENCES

- 1- D. G. Baden, *FASEB J.* **3**, 1807 (1989).
- 2- R. H. Pierce, *Toxicon* **24**, 955 (1986).
- 3- J. K. Sims, *Ann. Emerg. Med.* **16**, 1006 (1987).
- 4- D. G. Baden, *Int. Rev. Cyt.* **82**, 99 (1983).
- 5- R. Lasker and F. G. W. Smith, *U.S. Fish Wildl. Serv. Fish Bull.* **55**, 173 (1954).
- 6- J. M. C. Huang, C. H. Wu and D. G. Baden, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **229**, 615 (1984).
- 7- W. A. Catterall and M. A. Risk, *Mol. Pharmacol.* **19**, 345 (1981).
- 8- M. A. Poli, T. J. Mende and D. G. Baden, *Mol. Pharmacol.* **30**, 129 (1986).
- 9- M. Westerfield, J. W. Moore, Y. S. Kim and G. M. Padilla, *Am. J. Physiol.* **232**, C23 (1977).
- 10- D. G. Baden, T. J. Mende, A. M. Szmant, V. L. Trainer, R. L. Edwards and L. E. Roszell, *Toxicon* **26**, 97 (1988).
- 11- R. J. Lewis, M. Sellin, M. A. Poli, R. S. Norton, J. K. MacLeod and M. M. Shiel, *Toxicon* **29**, 1115 (1991).
- 12- V. L. Trainer, W. J. Thomsen, W. A. Catterall and D. G. Baden, *Mol. Pharmacol.* **40**, 988 (1991).
- 13- W. Schreiber and G. Jeglitsch, *Biochim. Biophys. Acta*, **1104**, 233 (1992).
- 14- Y. Y. Lin, M. Risk, S. M. Ray, D. Van Engen, J. Clardy, J. Golik, J. C. James and K. Nakanishi, *J. Am. Chem. Soc.* **103**, 6773 (1981).
- 15- G. A. Van Duyne, "ACS Symposium Series" (American Chemical Society, Washington, 1990), vol 418, p. 144.

- 16- Y. Shimizu, H.-N. Chou, H. Bando, G. Van Duyne and J. C. Clardy, *J. Am. Chem. Soc.* **108**, 514 (1986).
- 17- G. Jeglitsch, K. S. Rein, D. G. Baden and D. J. Adams, *Biophys. J.* **66**, A323 (1994).
- 18- R. A. Edwards, V. L. Trainer and D. G. Baden, *Mol. Brain Res.* **14**, 64 (1992).
- 19- D. G. Baden, T. J. Mende, W. Lichter and L. Wellham, *Toxicon* **19**, 455 (1981).
- 20- K. S. Rein, B. L. Lynn, R. E. Gawley and D. G. Baden, *J. Org. Chem.* **59**, 2107 (1994).
- 21- S. Gauvin and R. M. Leblanc, *Rev. Sci. Instrum.* **62**, 544 (1991).
- 22- J.-L. Brousseau, K. Tian, S. Gauvin, R. M. Leblanc and P. Delhaès, *Chem. Phys. Lett.* **202**, 521 (1993).
- 23- S. Gauvin and R. M. Leblanc, *Rev. Sci. Instrum.* **63**, 149 (1992).
- 24- J.-L. Brousseau, *Etude de la bactériorhodopsine et du C₆₀ par spectroscopie par effet tunnel inélastique*, (M. Sc. Thesis, Université du Québec à Trois-Rivières, 1993).
- 25- A. I. Scott, *Interpretation of the UV spectra of natural products*, (Pergamon Press, London, 1964), p. 15.
- 26- T. J. Bruno and P. D. N. Svoronos, *Handbook of basic tables for chemical analysis*, (CRC Press, Boca Raton, FL, 1989), p. 222.
- 27- K. Nakanishi, *Toxicon* **23**, 473 (1985).
- 28- J. G. Calvert and J. N. Pitts, *Photochemistry*, (John Wiley and Sons, London, 1966), p. 366.

- 29- M. G. Simonsen and R. V. Coleman, *Nature* **244**, 218 (1973).
- 30- A. Fournel, B. Oujia and J. P. Sorbier, *J. Physique Lett.* **46**, L-417 (1985).
- 31- M. G. Simonsen, R. V. Coleman and P. K. Hansma, *J. Chem. Phys.* **61**, 3789 (1974).
- 32- Y. Skarlatos, R. C. Barker, J. L. Haller and A. Yelon, *J. Phys. Chem.* **79**, 2587 (1975).
- 33- P. K. Hansma and R. V. Coleman, *Science* **184**, 1369 (1974).
- 34- D. Lin-Vien, N. B. Colthup, W. G. Fateley and J. G. Grasselli, *The handbook of infrared and raman characteristic frequencies of organic molecules*, (Academic Press, San Diego, CA, 1991).
- 35- A. R. Katritzky, *Quart. Rev. Chem. Soc.* **13**, 353 (1959).
- 36- N. B. Colthup, L. H. Daly and S. E. Wiberley, *Introduction to infrared and raman spectroscopy* (Academic Press, Boston, MA, 1990).
- 37- I. W. N. McNorris, N. M. D. Brown and D. G. Walmsley, *J. Chem. Phys.* **66**, 3952 (1977).
- 38- S. Varsanyi, *Assignments for vibrational spectra of seven hundred benzene derivatives* (John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, 1974).
- 39- P. Dizabo, H. E. Gatica, N. Le Calve and G. Franck, *J. de Chim. Phys. et de Physicochimie Biol.* **66**, 1497 (1969).
- 40- R. Freymann, J.-J. Meuleman and R. Lucas, *C. R. Acad. Sci. Paris B* **287**, 81 (1978).

- 41- N. M. D. Brown, W. J. Nelson and D. G. Walmsley, *J. Chem. Soc. Faraday II* **75**, 32 (1979).
- 42- J. Kirtley and J. T. Hall, *Phys. Rev. B* **22**, 848 (1980).
- 43- K. W. Hipps and R. Knochenmuss, *J. Phys. Chem.* **86**, 4477 (1982).
- 44- J. Kirtley and P. Soven, *Phys. Rev. B* **19**, 1812 (1979).

TABLE I. Extinction coefficients ($l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) of PbTx-2 and PbTx-3.

Wavelength (nm)	PbTx-2	PbTx-3
194	18 200	18 800
208	18 700	—
239	not resolved	2 800

TABLE II. IETS band position (cm^{-1}) and assignments of PbTx-2, PbTx-3, fully reduced PbTx-3 and PbTx-9.^a

PbTx-2	PbTx-3	PbTx-3 reduced	PbTx-9	Assignments ^b	References
NR	445m	418m	466w	Ring oop def.	32, 33
—	581w	574w	577w	O-H oop bend. (alcohol)	34
621m	608m	NR	616m	C-H def.	34
688w	686m	NR	689sh	C-H oop bend.	34
728m	718m	730m	724m	C-H oop def. (C-CH ₂ -C)	34
—	—	820m	—	Valerolactone ring def.	35, 36
1054s	1042m	NR	1050s	C-C-C aromatic	34, 38
1126w	1113m	1125w	1123w	C-O-C ring sym. str. MeOH	38
NR	NR	1154w	1155w	C-O-C ring sym. str.	38
1214w	NR	1225w	1217w	C-H in plane bend.	34
1276s	1265s	—	1279s	C-O-C ring w/ dble bond asym. str.	38
1302m	1281s	1299m	1290s	C-O-C ring w/o dble bond asym. str.	38
see Table III for the bands between 1 330 and 1 500 cm^{-1}					
1600m	1587w	1598s	1584m	Fused ring str.	39
NR	1653s	—	—	C=CH ₂ str.	34, 40

^a Note: s = strong; m = medium; w = weak; sh = shoulder; NR = not resolved

^b Note: def = deformation; bend = bending; str = stretching; oop = out-of-plane; sym = symmetric; asym = asymmetric

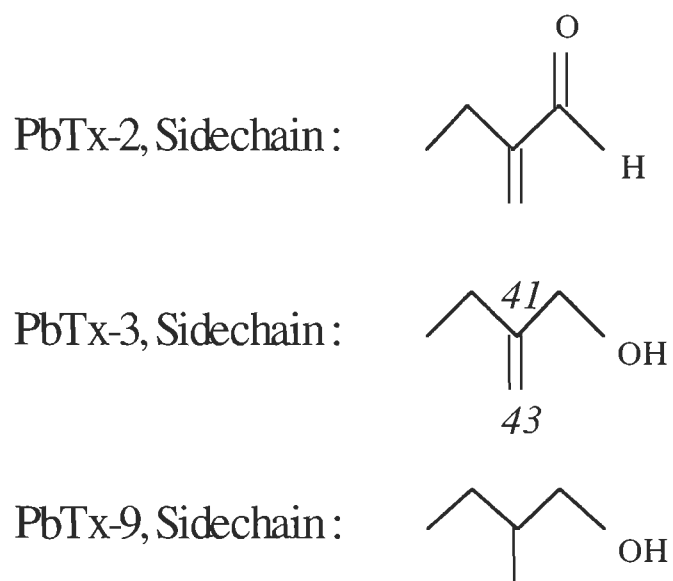
TABLE III. Wavenumbers (cm^{-1}), area and assignments of the IETS bands fitted in the 1 330 - 1 500 cm^{-1} region.

PbTx-2		PbTx-3		reduced PbTx-3		PbTx-9		Assignments
Wavenumber	Area ^a	Wavenumber	Area	Wavenumber	Area	Wavenumber	Area	
1346	0.15	1341	0.06	1340	0.06	1338	0.13	CH bend.
—		1355	0.16	1350	0.02	1356	0.001	CH ₂ -OH bend.
1377	1.00	1384	1.00	1370	1.00	1370	1.00	C-CH ₃ sym. bend.
1441	1.16	1440	0.32	1439	1.31	1440	1.62	C-CH ₃ asym. bend.
—		1452	0.06	—		—		noise ?
1470	0.43	1471	0.85	1464	0.45	1466	0.13	CH ₂ scissoring

^a Note: Area under the gaussian band fit, with the experimental C-CH₃ symmetric bending band normalized to an area of 1.

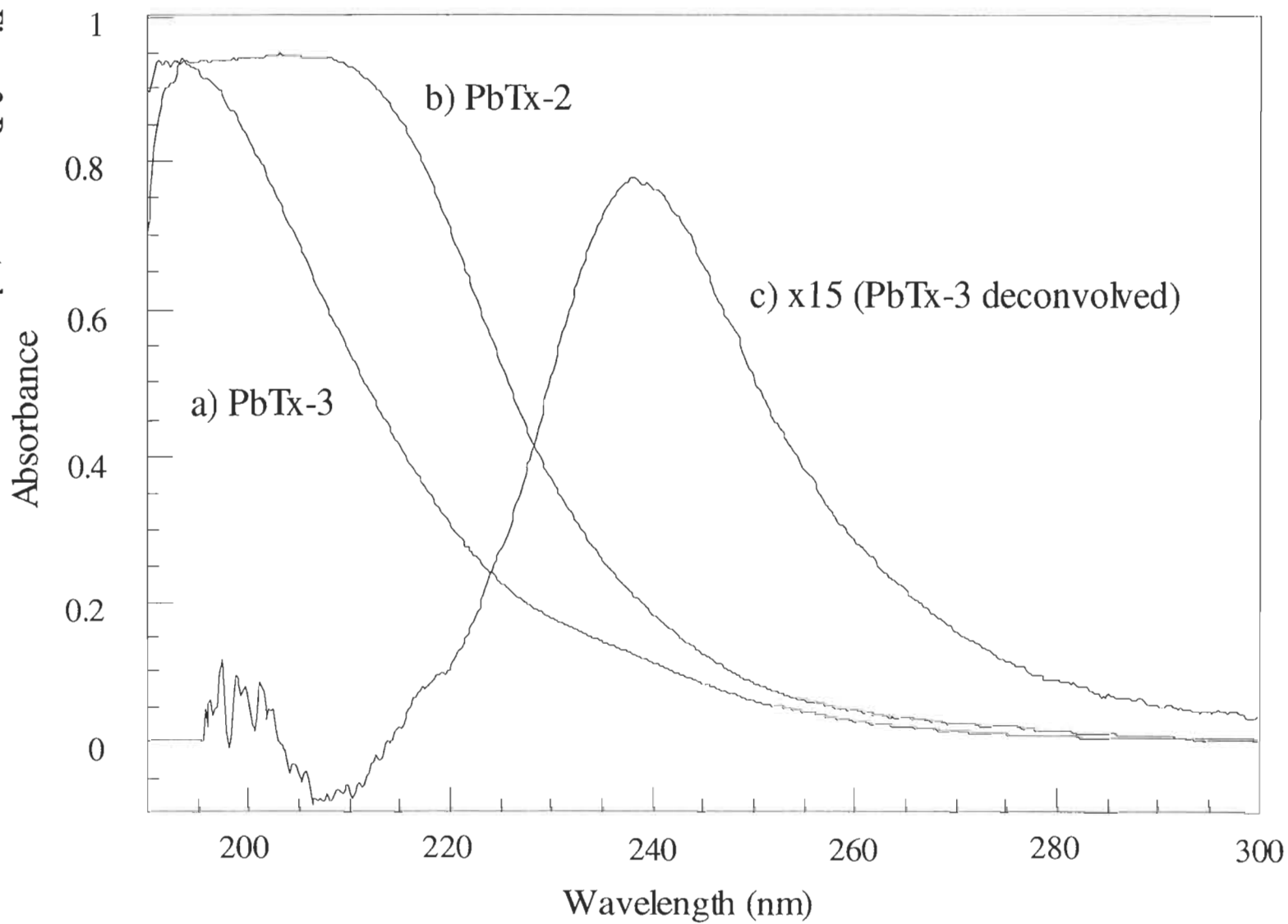
FIGURE CAPTION

- Fig. 1. Brevetoxin B type backbone, and the sidechain of a) PbTx-2, b) PbTx-3 and c) PbTx-9.
- Fig. 2. Absorption spectra of brevetoxin a) PbTx-3 b) PbTx-2 and c) Difference spectrum of PbTx-3 and a gaussian fit, revealing another band at 239 nm, shown magnified 15 times.
- Fig. 3. Inelastic electron tunneling spectrum of PbTx-2, PbTx-3, fully reduced PbTx-3, PbTx-9, and a blank junction for control.
- Fig. 4. Inelastic electron tunneling spectrum and band fitting of the strong bands in the $1\,330 - 1\,500\text{ cm}^{-1}$ region. The bold curve is the experimental spectrum and it has been shifted up for clarity.



60

Figure 2, Brousseau et al.



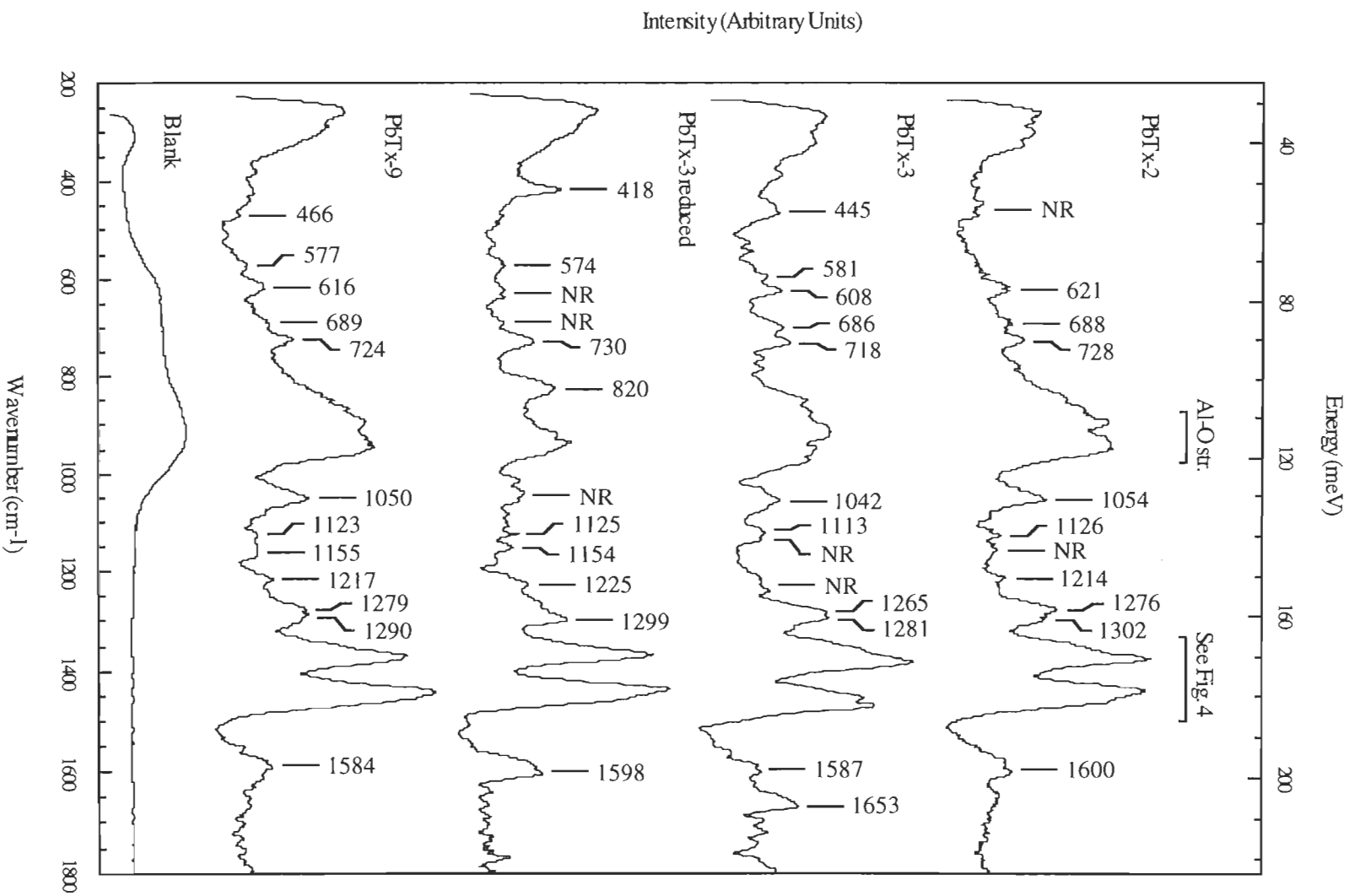


Figure 3, Brousseau *et al.*

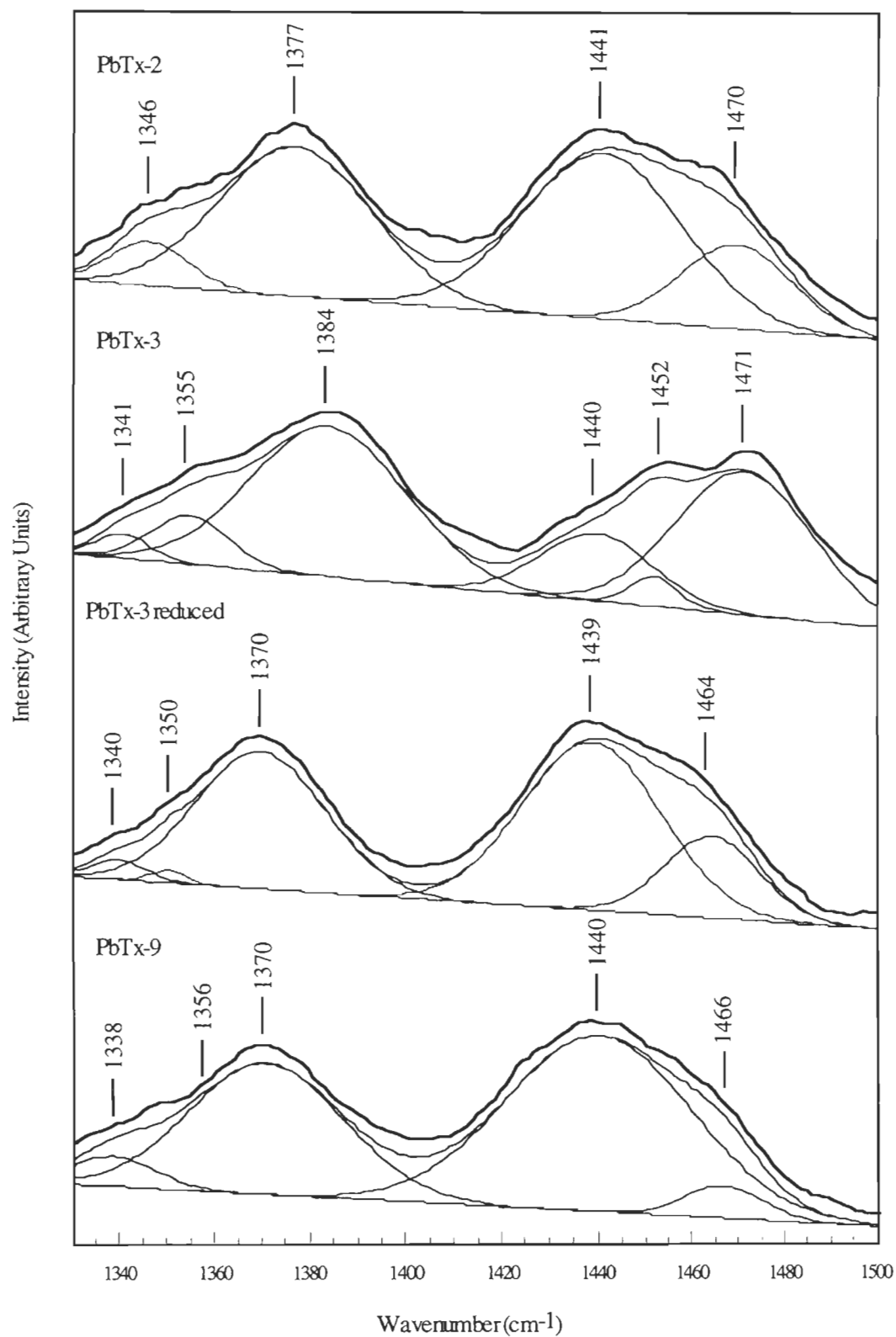


Figure 4, Brousseau *et al.*

3.2 Investigation of the Chemical Nature of Two-Dimensional Polymerized Octadecyltrimethoxysilane Langmuir Films by Inelastic Electron Tunneling Spectroscopy.

Cet article à été publié dans « Journal of Chemical Physics », Volume 108, pages 7391-7396, 1998.

Les auteurs sont : J.-L. Brousseau, S. Vidon et R. M. Leblanc.

La contribution des auteurs est la suivante :

J.-L. Brousseau	85%	La plupart du travail
S. Vidon	10%	Préparation des films Langmuir-Schaefer
R. M. Leblanc	5%	Directeur de thèse

Investigation of the Chemical Nature of 2-Dimensional Polymerized Octadecyltrimethoxysilane Langmuir Films by Inelastic Electron Tunneling Spectroscopy

J.-L. Brousseau, S. Vidon and R. M. Leblanc

*Department of Chemistry, University of Miami, 1301 Memorial Drive,
Coral Gables, FL 33124*

ABSTRACT

High resolution vibrational spectra of Langmuir films of octadecyltrimethoxysilane ($C_{18}TMS$) have been obtained by Inelastic Electron Tunneling Spectroscopy (IETS) in order to identify chemical modifications of $C_{18}TMS$ occurring at the air-water interface when the pH of the subphase is changed. The Langmuir films have been transferred onto an aluminum electrode by the Langmuir-Schaefer technique at three different acidic pH : 1.3, 3.3 and 3.8. The former was expected to promote the formation of polysiloxane polymers, while the latter was presumed to considerably slow down the condensation reaction, although the hydrolysis is effective. These assumptions found a direct proof in

the vibrational fingerprint of $C_{18}TMS$. Finally, we show that IETS is the most appropriate technique for the vibrational study of such films.

INTRODUCTION

The study of octadecyltrimethoxysilane ($C_{18}TMS$) polymerization at the air-water interface may bring important contributions to various research fields. The confinement of the polymerization to two-dimensions and the possibility to vary independently the parameters which directly influence the growth process, make the air-water interface an ideal site to study model systems of sol-gel material ¹. Indeed, the decoupling of the parameters enables a simplification of the phenomena taking place during the sol-gel growth. ² The strong adsorption of $C_{18}TMS$ onto various solid substrates such as mica, aluminum, gold or silicon ^{3,4} makes this molecule suitable as a common surface treatment agent. The two-dimensional nature of the film may bring an overall simplification to the study of the formation and of the behavior of the polymer that can be directly extrapolated to the three-dimensional case, bringing new insights into polymer science.

Several Langmuir studies of $C_{18}TMS$ at the air-water interface have been carried out during the last few years ¹⁻⁵. Results show that the behavior of $C_{18}TMS$ at the air-water interface depends essentially on the pH of the subphase. At the time scale of the experiment (~40 min), a visco-elastic phase has been observed at pH below the isoelectric point of the film (~3.8) and above 11.0. Between these two pH limits monomolecular species of $C_{18}TMS$ are present at the air-water interface. ² The isotherm obtained at pH around the isoelectric point reveals the presence of a solid phase, the nature of which is different from the one observed at low and high pH. An interpretation of the mechanisms

taking place at the interface for different pH has been suggested in a previous paper.² It promulgates the formation of linear polymers at low and high pH through an hydrolysis-condensation reaction, where the second step is considerably slowed down at the isoelectric point.² Although these hypothesis were supported by surface pressure and surface potential isotherms in reference 2, a direct evidence of the mechanism of polymerization is brought by Inelastic Electron Tunneling Spectroscopy (IETS), used for the first time as a spectroscopic probe to determine the chemical composition of these films.

The absence of any selection rules for the IETS gives the complete vibrational spectra.⁶ Its major drawback, which reduces its use as a spectroscopic technique, is the limitation in the diversity of the methods of preparation. In this study, we show that an alternative method, the Langmuir-Schaefer deposition technique can be used to investigate the chemical nature of the films and its interaction with the aluminum electrode.

MATERIAL AND METHOD

All the experiments were carried out in a class 1000 clean room, in which temperature (20 ± 1 °C) and relative humidity (50 ± 1 %) are kept constant. This ensured us of a contaminant free film and gave us excellent reproducibility of the IETS spectra. All the bands are reproduced and their intensity differs by less than 10%.

Langmuir films preparation and deposition

Octadecyltrimethoxysilane (90 % purity) has been supplied by Fluka Chemical (Ronkokoma, NY), and has been used without any further purification. It has been diluted in n-hexane (99.9 % purity, Aldrich, Millwaukee, WI) at a concentration of 1 mM. The subphases at different pH were prepared with deionized water (resistivity = $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, surface tension = 72.6 mN/m at 20 ± 1 °C ; Modulab 2020 water purification system, Continental Water Systems Corporation, San Antonio, TX) and HCl. Compressions were carried out on a KSV 5000 Langmuir trough ($450 \times 150 \times 4 \text{ mm}^3$; KSV Instruments, Helsinki, Finland) and the surface pressure was measured with a Wilhelmy balance.

Thirty six microliters of C_{18}TMS solution was spread at the air-water interface, the initial molecular area prior to compression being then set at $97 \text{ \AA}^2 \text{ molecule}^{-1}$. Ten minutes were allowed for the solvent to evaporate before the compressions were started at a speed of $2.5 \text{ \AA}^2\cdot(\text{molecule min.})^{-1}$. The films were then compressed until reaching a surface pressure of $20 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$. This surface pressure is known to generate a collapse of the non-

hydrolyzed form of $C_{18}TMS$, at intermediate pH (4 - 11), and to induce a deformation of the film in the third dimension in the complementary range of pH. Since we followed the conditions of spreading and compression described in reference 2, the Langmuir isotherms obtained were similar to those already reported in the aforementioned reference. The films were then transferred onto an Al / AlO_x substrate by the Langmuir-Schaefer (L-S) technique ⁷, washed with absolute ethanol (Florida distillers Co., Lake Alfred, FL), and spun at 2500 rpm for 30 seconds. These last two steps were found to be necessary to obtain junctions of appropriate resistance (below 100 Ω) for IETS measurements.

Stock $C_{18}TMS$ and stearic acid films preparation

The $C_{18}TMS$ film from the stock was prepared by depositing 2-3 drops of a $5 \cdot 10^{-5}$ M solution in chloroform onto the freshly prepared Al / AlO_x substrate. Stearic acid film was prepared following the same method from a $5 \cdot 10^{-4}$ M solution in chloroform. Both films were spun at 2500 rpm for 30 seconds after deposition.

IETS set up, junction preparation and measurements

The IET spectrometer measures the second derivative of the current over the voltage (d^2I / dV^2) applied to an asymmetric Josephson junction. ⁸ The sandwich junctions measured were of the type $Al / AlO_x / \text{film} / Pb$ held in a simple device ⁹ and immersed in liquid helium at 4.2 K. The first electrode, aluminum, was evaporated to a thickness of 100 nm at a vacuum pressure of less than $1 \cdot 10^{-7}$ Torr. The vacuum was broken by introducing 99 % pure oxygen in the vacuum chamber to oxidize the aluminum with a

strong preference for Al_2O_3 over $\text{Al}(\text{OH})_3$. It is known that in a matter of seconds, a ~ 3 nm layer of alumina is formed on top of the aluminum with a slow increase of thickness of alumina after this time.^{10, 11} The whole deposition process of the films took 5 minutes, for the L-S deposition or the spin coating method, after which the junction was returned to vacuum for the evaporation of the top electrode, lead, to a thickness of 200 nm. The short period of time required to deposit the film minimized the production of $\text{Al}(\text{OH})_3$ caused by the humidity in the clean room. After completion, the sandwich junction was submersed in liquid helium to measure the second derivative of the current over the voltage applied using a lock-in amplifier (SR810, Stanford Research Systems, Sunnyvale, CA). A bias voltage ranging from 0 to 250 mV was applied through a ramp at a sweep speed of 0.09 mV s^{-1} . A modulation voltage of $1 \text{ mV}_{\text{rms}}$ was used in order to measure the second derivative, giving an effective resolution of 1 mV or about 8 cm^{-1} . Since each spectrum has an intrinsic noise depending on the molecule, the method of deposition and the resistivity of the measured junction. Hence, each spectrum presented here is an average of 4 to 50 scans depending on the intrinsic noise of the junction.

RESULTS AND DISCUSSION

Vibrational spectra, on the 200 - 1800 cm^{-1} wavenumber range, of stearic acid, C_{18}TMS , and of three different Langmuir-Schaefer films (L-S) of C_{18}TMS prepared on subphases whose pH were adjusted at 1.3, 3.3 and 3.8 are represented in figure 1, 2, 3, 4 and 5, respectively. At energies lower than 261 cm^{-1} the spectra have strong broad bands due to the phonon spectrum of the aluminum and alumina.¹² Such a band is noted in figure 3 at 291 cm^{-1} . These bands have typical intensities three orders of magnitude greater than the vibrational bands and in order to be resolved needs a modulation voltage less than 1 mV_{rms} and temperatures below 4.2 K.¹³ Our experimental conditions do not permit a measurement below 4.2 K.

All the spectra present common bands which have been attributed to vibrational features of the aluminum substrate and of the C_{18} moieties. They are described in the following paragraphs.

Aluminum / Alumina modes

The adsorption of oxygen as well as its combination with native aluminum has been extensively studied. Spectra accounting for the vibrational properties of the thin alumina layer during its formation as well as during its annealing, obtained through Electron Energy Loss Spectroscopy (EELS) measurements have been published elsewhere.^{11, 14, 15} Regarding the conditions in which the aluminum substrates have been

prepared, the different bands expected, observed and attributed to vibrational modes of the aluminum / alumina substrate underlined in figure 3 (in which they appear the most clearly) are :

i- Two intense and very broad bands centered around 910 and 717 cm^{-1} , the latter appearing as a shoulder located on the low wavenumber side of the former.

ii- A weak and broad band centered around 557 cm^{-1} , hardly resolved in the different spectra due the overwhelming of the noise of the background.

iii- An intense band located around 944 cm^{-1} (observed at 950 on figure 1, 941 on figure 2, 954 cm^{-1} on figures 4 and 5) attributed to surface Al–OH stretching mode.¹⁶

iv- An overtone band¹¹, clearly discernible on figure 3 around 1702 cm^{-1} (at 1712 cm^{-1} on figure 4), is either absent or very weak in the other spectra. Such enhancement of this band at pH lower than 3.8 is discussed later.

v- Two broad combination bands¹¹ expected at 1210 and 1580 cm^{-1} , the former appears overwhelmed by more defined bands present in this region. The latter is present around 1595 cm^{-1} (1601 on figure 1, 1598 on figure 2, and 1604 cm^{-1} on figures 4 and 5) either as a broad and weak band for films prepared at pH 3.8 (figure 5) or rather sharp and intense for the others. Such difference is discussed later, along with the enhancement of the intensity of the band located around 1702 cm^{-1} .

C₁₈H₃₇ modes

The spectrum of stearic acid (figure 1) will be used as a basis for the assignment of the C₁₈ moiety vibrational modes, by finding the common bands to the other spectra.

Methylenes modes

Most of the bands observed in the 700 - 1500 cm^{-1} region, some of them overlying the previously assigned bands, are assigned to vibrational modes of rotamers of the C_{18} moiety. The characteristic broad and asymmetric band, located around 733 cm^{-1} , is assigned to the methylene rocking modes ($\gamma_r(\text{CH}_2)$).¹⁷⁻¹⁹ Two other bands, which rely on the multiplicity of the conformations of the hydrocarbon chain, are located around 1448 and 1468 cm^{-1} . They are attributed to methylene scissoring modes ($\delta(\text{CH}_2)$).¹⁹ The former corresponds to the out-of-phase mode of the all-*trans* chain, while the latter, appearing as a shoulder, corresponds to sequences of all-*trans* bonds, bounded by gauche bonds.¹⁹ The methylene wagging modes ($\gamma_w(\text{CH}_2)$), span the whole 1170 - 1312 cm^{-1} range, mixed with methylene twisting-rocking modes ($\gamma_t(\text{CH}_2)$).¹⁹ The methylene rocking-twisting ($\gamma_r(\text{CH}_2)$), have an in-phase mode located around 733 cm^{-1} and other modes have been determined, with the help of the corresponding paraffin bands found in the literature¹⁷⁻¹⁹, at 778, 843 and 882 cm^{-1} . The other rocking-twisting modes are either mixed with wagging modes, or C-C stretching modes in the 980 - 1075 cm^{-1} region.

Methyl modes

Two bands assigned to the terminal methyl group are found : the rocking methyl observed on top of the aluminum broad band around 902 cm^{-1} , and the symmetric bending mode (umbrella) located around 1383 cm^{-1} .¹⁷⁻¹⁹

C–C stretching modes

Three intense bands assigned to C–C stretching modes are found around 1140 cm^{-1} (similar to the A_g mode of crystalline polyethylene)¹⁷, 1074 and 1032 cm^{-1} . Another mode, appearing either as a band or as a shoulder, is clearly distinguishable around 996 cm^{-1} , and is assigned to a C–C stretching mode.

C–C–C bending and other skeletal modes

The C–C–C bending modes and chain skeletal deformations are expected at wavenumber below 700 cm^{-1} . The spectrum of stearic acid shows in the $220 - 700\text{ cm}^{-1}$ region a series of band which are attributed to these motions. All of these bands are found in the spectrum of $C_{18}\text{TMS}$ (figure 2), as well as in the other spectra even if overlaid by other bands.

The bands previously listed in this section are those common to all spectra, and the assignment enables us to separate bands due to the vibrations of siloxane as well as to estimate the differences among the spectra. The amorphous nature of the C_{18} moieties in the different films enables us to assume the location of the vibrational bands of the hydrocarbon chain, unaltered in the region of the spectra, in which changes in position and shapes of some other bands will be examined.

C₁₈TMS Spectrum (figure 2)

The characteristic bands of the Si–O–CH₃ stretching vibrations are easily found on the spectrum at 1058 and 1091 cm⁻¹, the latter appearing as a shoulder on the right hand side of the former. The first band is assigned to the symmetric (ν_s (SiOCH₃)) component and the other to the anti-symmetric one (ν_a (SiOCH₃)).²¹ Methyl groups of the methoxy functions give rise to the following bands :

- i-* A symmetric bending mode (Umbrella) observed at 1354 cm⁻¹.
- ii-* A methyl rocking mode found in the literature around 820 cm⁻¹,²¹ this position was confirmed by FTIR measurements on a C₁₈TMS solution in CCl₄ (not shown here). This band appears as a component of the shoulder located on the left hand side of the aluminum / alumina broad band located at 910 cm⁻¹.

The other component of this shoulder finds an origin in the Si–C stretching mode, expected to be observed around 860 cm⁻¹.²⁰ Other bands assigned to siloxane vibrations due to their intensities and their relative sharpness are those located at 622 and 684 cm⁻¹. The first band is near the one observed for tetramethoxysilane (Raman line at 642 cm⁻¹).²² They may be assigned to symmetric and anti-symmetric bending vibrations of —Si(OCH₃)₃.

All these bands are of interest in the study of the chemical modifications of C₁₈TMS at the air-water interface as a function of the pH. We shall now focus on the changes observed in the spectrum of the film prepared at pH 1.3. This film has been supposed to

contain condensed species of $C_{18}TMS$ and the following arguments support this hypothesis.²

Spectrum of $C_{18}TMS$ film prepared on a pH 1.3 subphase (figure 3)

The most striking change is the presence of an intense band at 424 cm^{-1} , unambiguously assigned to the Si–O–Si linkage bending vibration.^{20, 23 - 25} The formation of such bond at pH 1.3 is accompanied by other characteristic vibrational bands listed below :

i- Si–O–Si « symmetric » stretching vibration appearing as a broad band centered at 622 cm^{-1} .^{20, 26, 27}

ii- Si–O–Si « anti-symmetric » stretching vibration gives rise to a band around 1045 cm^{-1} .²⁰

iii- The shift of the band assigned to Si–C stretching vibration mode from 860 (figure 2) to 785 cm^{-1} (figure 3).²⁰

Moreover, the hydrolysis and condensation process is underlined by the reduction or the disappearance of bands previously assigned to vibrations of the methoxy group from figure 2.

Another interesting feature is the modification of the band located at 1140 cm^{-1} in the stearic acid spectrum, assigned to the $k = 0$ C–C stretching band. Instead of the well-defined band already noticed, we observe a doublet, centered at 1140 cm^{-1} . Indeed, a

splitting of this band due to the coupling of C₁₈ moieties through the Si–O–Si linkage is expected.

Spectrum of C₁₈TMS film prepared on a pH 3.8 subphase (figure 5)

Two regions are altered when the spectrum of the film prepared at pH 3.8 is compared to the one prepared at pH 1.3. The Si–O–Si bending mode shifts from 424 to 343 cm⁻¹, and the broad band centered at 626 cm⁻¹ is replaced by a progression observed all over the 405 - 694 cm⁻¹ range, different from the one assigned to C–C–C bending and C–C skeletal modes (figure 1). These two features are characteristic of a large reduction of the size of the condensation reaction products, which at this pH should contain no more than ten monomer units.²⁵ The usual associated feature is the splitting of the Si–O–Si « anti-symmetric » stretching band.^{27,28} This one, is suggested by the broadening of the band present in the 1029 - 1094 cm⁻¹ range, and by the slight shift of the weak band observed at 1032 cm⁻¹ on the stearic acid spectrum (figure 1), assigned to a C–C stretching mode, to 1029 cm⁻¹, as well as its deformation. We believe that the maximum observed at 1029 cm⁻¹ is part of the doublet, and the C–C stretching band is observed as a very weak shoulder on the right hand side of this band.

The other remarkable feature of the 1000 - 1100 cm⁻¹ range is the growth of a maximum at 1071 cm⁻¹, assigned to the Si–OH stretching mode.²⁹

This assignment strongly supports the assumption, according to which, condensation is considerably slowed down at the isoelectric point (pH 3.8), although hydrolysis is effective.

Other spectral features

We reported at the beginning of this attribution the presence of two bands assigned to combination and overtone between aluminum / alumina modes. The first one gives rise to a band located around 1595 cm^{-1} (figure 3), and the second to a weak and broad band around 1702 cm^{-1} (figure 3). The relative intensities of these bands compared to the other aluminum / alumina bands, as well as their width, are roughly equal among the spectra of figures 1, 2 and 5. Nevertheless, the spectra of figures 3 and 4 show a narrowing of those bands as well as an increase of their relative intensities. It is clear that such a feature is essentially due to the presence of the polymer, which is known to be chemically adsorbed onto the alumina substrate. These spectral features may be explained if these bands are no longer considered as combinations between aluminum / alumina but between aluminum / alumina bands and « antisymmetric » stretching bands of the polysiloxane. Indeed, we first note that the maxima are observed around 1595 cm^{-1} and 1704 cm^{-1} , decomposed as $557 + 1045$ and $717 + 1045$. Thus, the aluminum / alumina mode engaged in the combination under consideration is always the one corresponding to the maximum of the broad band to which it belongs. Therefore, we believe that the chains act on the surface as a correlator among the different grains of alumina. These differences in nature among the grains constitute the source of the broad character of the band. Such correlation may

impose, for frequencies around 1595 and 1704 cm^{-1} , on the different grains a mode of vibration (forced vibration) which is the motion of the type of grains which are in the majority. This may explain the narrowing of the combination bands as well as the increase in intensity of the maximum.

The chemical adsorption of the siloxane moiety onto alumina has another consequence. Indeed, its fixation must result in the decrease of the overall number of vibrational modes of the C_{18} moiety. The modes suppressed are those involving, in their potential energy, the strongest displacements of this end chain group. Snyder and Schachtschneider¹⁷ pointed out that, for paraffins, the modes corresponding the most to this criteria are the twisting-rocking bands between 1175 and 1295 cm^{-1} . This is observed on the spectrum of the Langmuir-Schaefer film of C_{18}TMS prepared at pH 1.3 (figure 3), on which a transmission window is observed around 1200 cm^{-1} , a decrease of the intensity of the bands on the left hand side of the set of bands between 1172 and 1315 cm^{-1} , as well as the appearance of a series of bands on the same side of this set.

This phenomenon and its interpretation are used as an argument to show that complete chemical adsorption (in which translational and rotational degrees of freedom of the siloxane part vanish) onto alumina occurs only when C_{18}TMS is polymerized. Indeed, the transmission window at 1200 cm^{-1} is not observed on the spectra of C_{18}TMS from the stock or on the one of the film prepared at pH 3.8, film constituted for the most part of hydrolyzed species of C_{18}TMS . However a chemisorption is easily seen at the macroscopic

scale. Then, the polymerization of the siloxane moieties seems to be a prerequisite to the enhancement of the chemical adsorption. This result may be easily extrapolated to the formation of the Self Assembled Monolayer (SAM), for the preparation of which, a mixture of reactants, favorable to siloxane moieties condensation, is mandatory.³⁰

This may be explained by the following. The hydrolysed species of $C_{18}TMS$ may be adsorbed onto alumina by a simple chemical oxygen bond. Indeed, the difference in symmetries as well as inter-atomic distances of the siloxane part and the alumina lattice at its surface do not allow a complete chemisorption, *i. e.*, wherein all the oxygens are forming a chemical bond with aluminum. The stacking of the hydrocarbons part cannot be optimum in this case and leads to the formation of an amorphous film on the aluminum surface. The polymerization of the siloxane moieties allows a mechanical stress to be exerted on the siloxane bond. Indeed, it is well known that the energy of bending of the Si-O-Si linkage is particularly low³¹ and may be brought about by the constructive interaction between the hydrocarbon moieties, by a mechanical torque exerted with respect to the silicon atom. This stress enables the polysiloxane chain to adopt a straight conformation. The new configuration adopted by the polysiloxane chain is then favorable to chemisorption onto alumina, to configurational order among the hydrocarbon chains, and to a real two-dimensional character of the chemisorbed film formed, which is characteristic of SAM.

Spectrum of C₁₈TMS film prepared on a pH 3.3 subphase (figure 4)

The spectrum of C₁₈TMS prepared at pH 3.3 (figure 4) is in every point similar to that of the C₁₈TMS film prepared on a pH 1.3 subphase. All the spectral features listed above can be found in this spectra. The condensation reaction generates polymers. It then seems that the decrease of the kinetic of the condensation reaction occurs at pH very close to the one corresponding to the isoelectric point of the Langmuir film. The one-off character of this phenomenon supports the mechanism suggested in reference 2, based on the delicate balance between the necessary low ionic strength of the subphase and the high oxonium ions concentration, enabling their adsorption on the methoxysilane head group.

CONCLUSIONS

Our study clearly shows the relevance of using IETS in resolving vibrational features of one molecular thick materials. Its enhanced resolution compared with that obtained with other vibrational spectroscopic techniques such as MIR-FTIR or RA-FTIR, also devoted to the study of these films, enables the observation of more vibrational modes of interest. Nevertheless, the preparation of the sample remains a major problem, and further work is being conducted to render IETS the most appropriate spectroscopic technique in the study of two-dimensional systems.

ACKNOWLEDGMENT

Aknowledgment is made to the donors of the Petroleum Research Fund, administrated by the ACS, for support of this research.

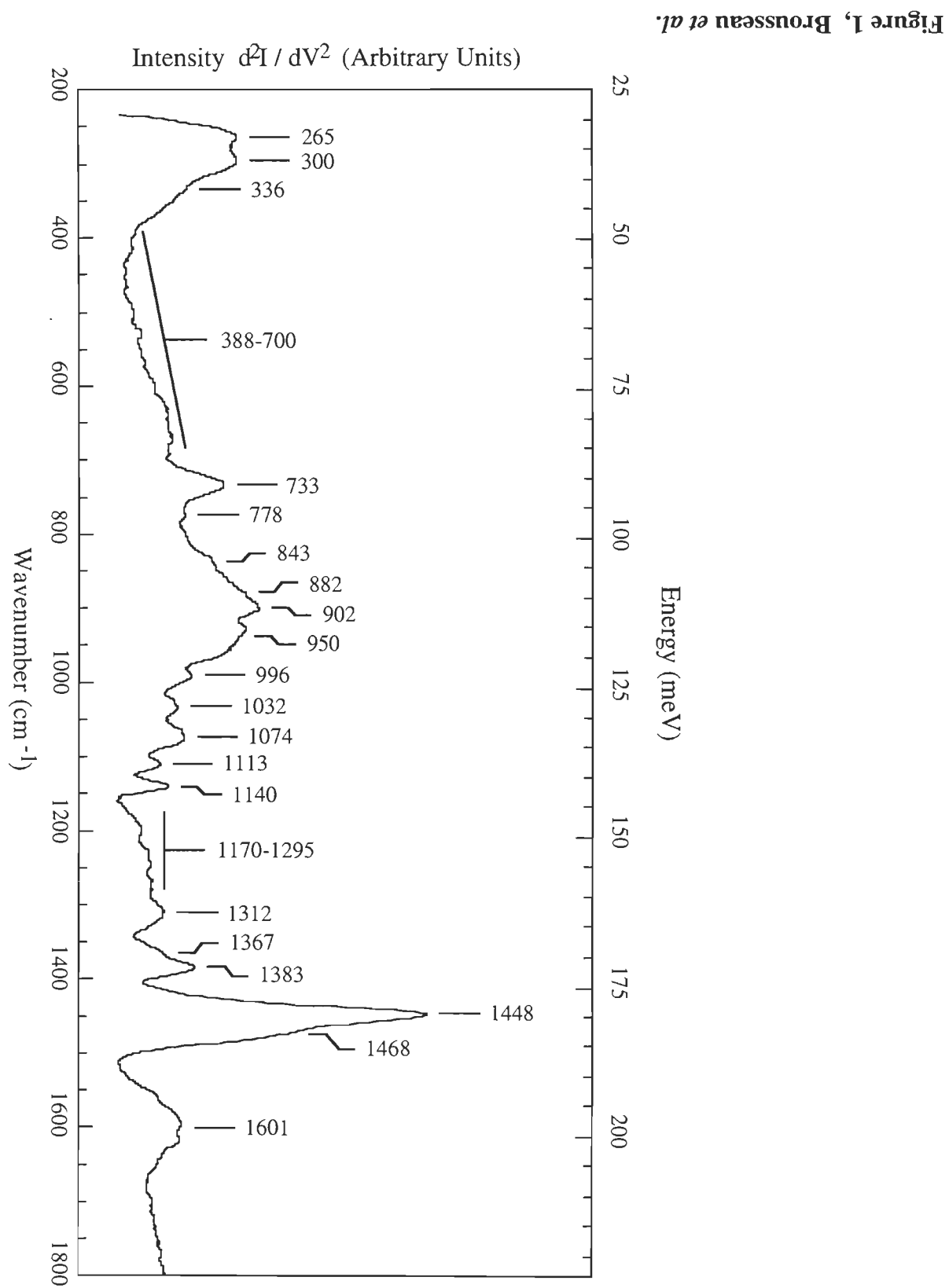
References

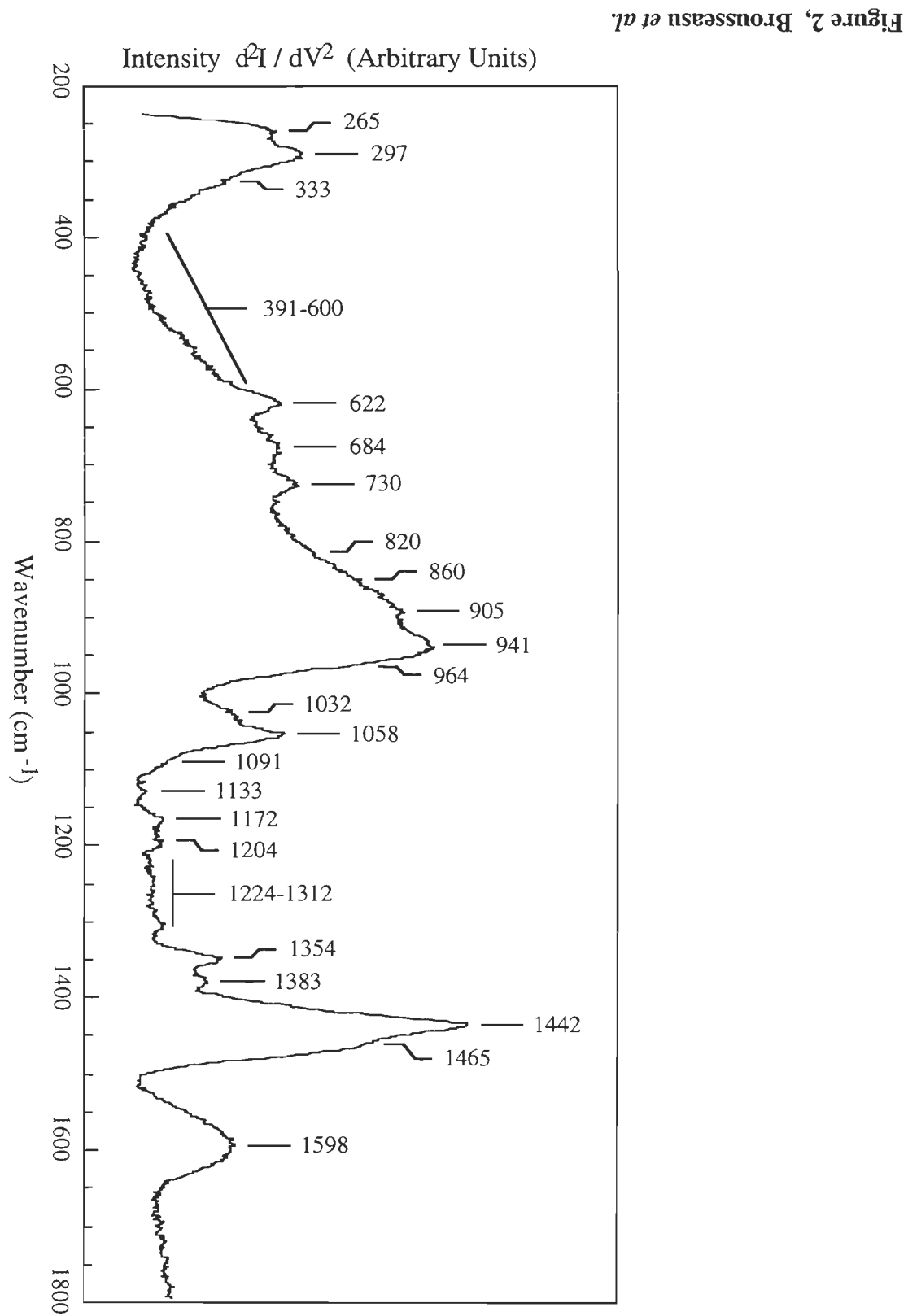
- [1] M. Lindén, J. P. Slotte, and J. B. Rosenholm, *Langmuir*, **12**, 1449 (1996).
- [2] S. Vidon, and R. M. Leblanc, *J. Phys. Chem. B* in press.
- [3] D. M. Taylor, S. K. Gupta, and P. Dynarowicz, *Thin Solid Films*, **80**, 284 (1996).
- [4] A. Kuznetsova, E. A. Wovchko, and J. T. Yates Jr, *Langmuir*, **13**, 5322 (1997).
- [5] J. Sjöblom, G. Stakkestad, H. Ebeltof, S. E. Friberg, and P. Claesson, *Langmuir*, **11**, 2652 (1995).
- [6] J.-L. Brousseau, K. Tian, S. Gauvin, R. M. Leblanc and P. Delhaès, *Chem. Phys. Lett.*, **202**, 521 (1993).
- [7] I. Langmuir, and V. J. Schaefer, *J. Am. Chem. Soc.*, **60**, 1351 (1938).
- [8] P. K. Hansma, Ch. 1 in *Tunneling Spectroscopy* ; P. K. Hansma; Ed. (Plenum Press, New York: 1982).
- [9] S. Gauvin, and R. M. Leblanc, *Rev. Sci. Instrum.*, **62**, 544 (1991).
- [10] R. Michel, J. Gastaldi, C. Allasia, C. Jourdans, and J. Derrien, *Surf. Sci.*, **95**, 309 (1980).
- [11] J. E. Crowell, J. G. Chen, and J. T. Yates Jr., *Surf. Sci.*, **165**, 37 (1986).
- [12] S. Gauvin, and R. M. Leblanc, *Thin Solid Films*, **210/211**, 508 (1992).
- [13] K. Yamaguchi, *Phys. Stat. Solid (b)*, **179**, K11 (1993).
- [14] J. L. Erskine, and R. L. Strong, *Phys. Rev. B*, **25**, 5547 (1982).
- [15] R. Strong, B. Firey, F. W. de Wette, and J. L. Erskine, *Phys. Rev. B*, **26**, 3483 (1982).

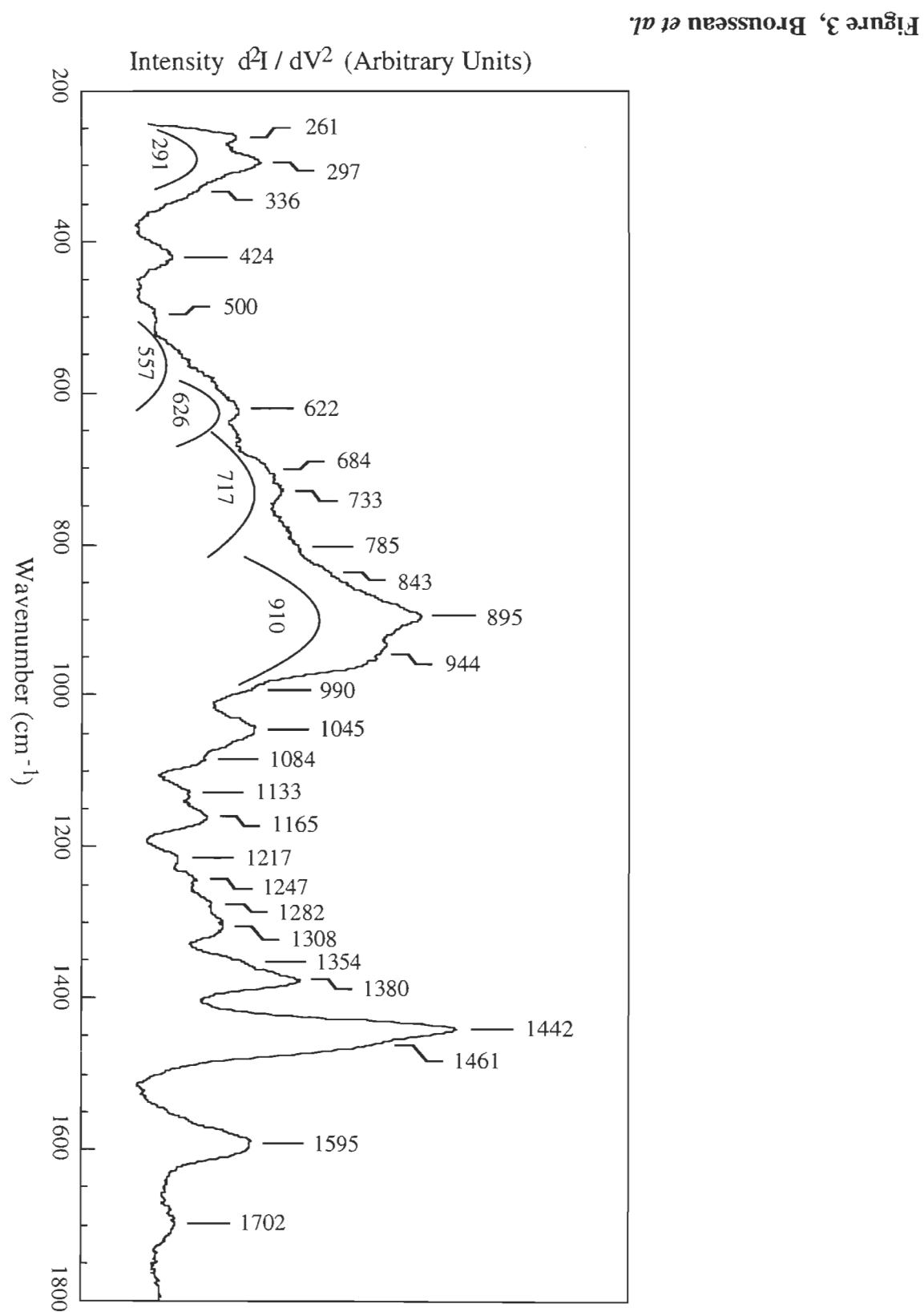
- [16] J.-L. Brousseau, N. Vibet, R. M. Leblanc, K. S. Rein, and D. G. Baden, *Appl. Spec.*, in press.
- [17] R. G. Snyder, and J. H. Schachtschneider, *Spectrochim. Acta*, **19**, 85 (1963).
- [18] J. H. Schachtschneider, and R. G. Snyder, *Spectrochim. Acta*, **19**, 117 (1963).
- [19] R. G. Snyder, *J. Chem. Phys.*, **47**, 1316 (1967).
- [20] D. Lin- Vien, N. B. Colthup, W. G. Fateley, and J. G. Grasselli, *Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules* (Academic Press, San Diego: 1991).
- [21] A. L. Smith, *Spectrochim. Acta*, **16**, 87 (1960).
- [22] K. Iguchi, *J. Chem. Phys.*, **22**, 1937 (1954).
- [23] H. D. Fuchs, M. N. Stutzmann, M. S. Brandt, M. Rosenbauer, J. Weber, A. Breitschwerdt, P. Deák, and M. Cardona, *Phys. Rev. B.*, **48**, 8172 (1993).
- [24] N. Neto, G. Sbrana, M. Muniz-Miranda, S. Dobos, B. Zelei, L. Harsányi, *J. Polym. Sci; Polym. Chem.*, **21**, 3390 (1983).
- [25] A. L. Smith, *Spectrochim. Acta*, **19**, 849 (1963).
- [26] J. L. Bellamy, *The Infra-Red Spectra of Complex Molecules* (Chapman and Hall, London: 1975).
- [27] R. C. Lord, D. W. Robinson, and W. C. Schumb, *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 137 (1956).
- [28] N. Wright, and M. Hunter, *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 803 (1947).
- [29] J. Rouviere, V. Tabacik, and G. Fleury, *Spectrochim. Acta*, **29A**, 229 (1973).
- [30] J. Sagiv, *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 92 (1980)
- [31] H. Sun, and D. Rigby, *Spectrochim. Acta A*, **53**, 1301 (1997)

Figure Captions

- Figure 1 :** IETS spectrum of stearic acid solution in chloroform ($5 \cdot 10^{-4}$ M) prepared by the spinning method from the stock. 35 scans averaged.
- Figure 2 :** IETS spectrum of C_{18} TMS solution in chloroform ($5 \cdot 10^{-5}$ M) prepared by the spinning method from the stock. 12 scans averaged.
- Figure 3 :** IETS spectrum of a Langmuir-Schaefer film of C_{18} TMS prepared on pH 1.3 subphase. 30 scans averaged.
- Figure 4 :** IETS spectrum of a Langmuir-Schaefer film of C_{18} TMS prepared on pH 3.3 subphase. 4 scans averaged.
- Figure 5 :** IETS spectrum of a Langmuir-Schaefer film of C_{18} TMS prepared on pH 3.8 subphase. 50 scans averaged.







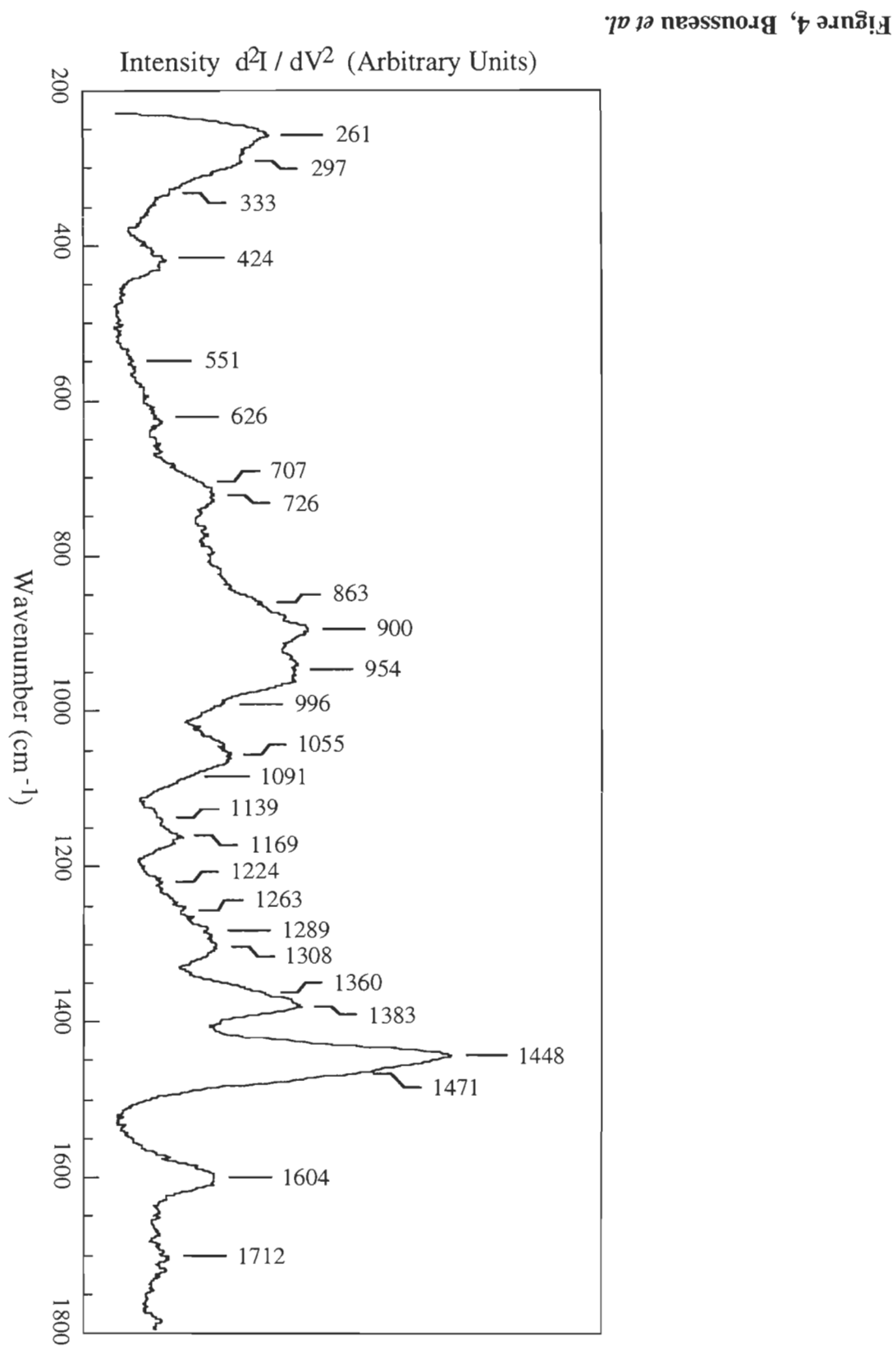
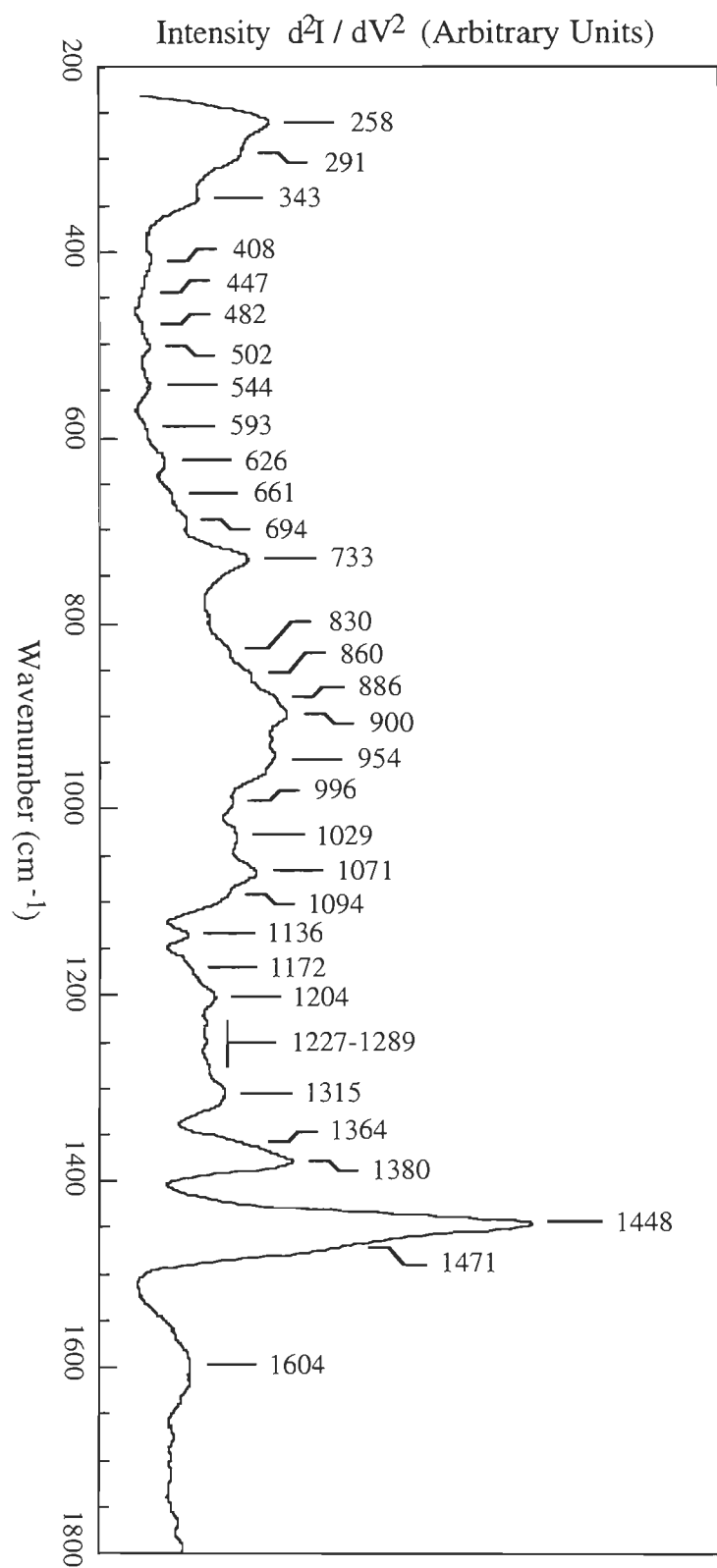
Figure 4, Brousseau *et al.*

Figure 5, Brousseau *et al.*

4 CONCLUSIONS

Les résultats présentés dans cette thèse montrent que la SETI est un outil marginal pour l'étude de composés qui ne peuvent être étudiés par les méthodes spectroscopiques conventionnelles. Une des limitations qui rend cette technique marginale est la tâche ardue de la fabrication d'une jonction mesurable. Pour la SETI, la plupart du travail consiste en la fabrication de la jonction ayant une résistance de l'ordre voulu. Une fois la jonction complétée, le système de mesure est ajusté et le balayage est démarré. Dans notre cas, le système de mesure est automatisé et peut donc acquérir des spectres en continu pendant plusieurs heures sans assistance. Les spectres présentés dans les publications au chapitre 2 de cet ouvrage ont dû être balayés de 4 à 55 fois, puis moyennés, afin d'obtenir un bon rapport signal sur bruit (S / B). De plus, différentes aires de jonction ont dû être mesurées afin d'obtenir une capacitivité de la jonction qui a pu permettre leurs mesures. Finalement, la concentration de la solution déposée par tournoisement ou la pression de surface du film déposé par la méthode de Langmuir-Schaefer, ont dû être ajustés afin d'obtenir une résistance mesurable (20 – 200 Ω) par le spectromètre SETI. Toutes ces difficultés de fabrication d'une "bonne" jonction, en plus du temps de fabrication typique d'une jonction

(~18 heures) rendent l'utilisation de la SETI difficile et expliquent la faible popularité de ce type de mesure de spectres vibrationnels.

Toutefois, nous avons su tirer profit des caractéristiques spéciales de la SETI afin d'étudier des molécules et polymères qui ne peuvent être étudiés par d'autres méthodes spectroscopiques aussi facilement que par la SETI. Dans un premier cas, nous avons étudié le spectre vibrationnel de 4 brevetoxines qui ne peuvent être obtenues en quantité voulue pour acquérir un spectre vibrationnel par spectroscopie infrarouge ou Raman.

Le but de notre recherche était de repousser les limites de la technique SETI afin de pouvoir étudier des molécules biologiques et ultimement de pouvoir utiliser la SETI comme témoin de reconnaissance moléculaire sur un film monomoléculaire. Comme la SETI est une technique qui permet de mesurer une fraction de monocouche sur une aire inférieure à 1 mm^2 , cette technique était l'outil tout à fait approprié pour la détection de reconnaissance moléculaire de picogrammes sur une petite surface. Nous avons choisi d'étudier en premier lieu une toxine marine qui est disponible en faible quantité, mais dont l'action sur le canal à ion sodium de l'être humain est dévastateur, voir même mortel, en très faible dose. Nous avons étudié les spectres vibrationnels de ces toxines adsorbées sur l'alumine dans la région $200 - 1\,800 \text{ cm}^{-1}$. Présentons donc les résultats que nous avons trouvés.

Les spectres SETI contiennent de très fortes bandes à basses énergies, ce qui nous limite à l'étude de spectres vibrationnels dans la région supérieure à 200 cm^{-1} . Les larges et intenses bandes d'énergie qui sont en deçà de 300 cm^{-1} sont attribuables au spectre des phonons. Les spectres étudiés pour les brevetoxines ont été acquisitionnés jusqu'à $1\,800\text{ cm}^{-1}$ afin d'obtenir un meilleur signal sur bruit pour un même temps de balayage. Il est bien connu que les spectres vibrationnels ne contiennent que très peu de bandes à des énergies supérieures à $1\,800\text{ cm}^{-1}$, alors nous nous sommes contentés d'étudier cette partie appelé empreinte (fingerprint). Dans tous les spectres des PbTx étudiées, nous notons une large et forte bande située dans la région de $225 - 235\text{ cm}^{-1}$ due au spectre des phonons. Cette bande se retrouve aussi dans le spectre d'une jonction fabriquée sans déposer de toxine. Nous attribuons donc cette bande au spectre de phonon qui se propage dans l'alumine.

La première bande vibrationnelle observée dans les spectres des brevetoxines se trouve dans la région $418 - 466\text{ cm}^{-1}$. En général les bandes qui sont situées dans cette région sont dues à des déformations de chaîne car ces chaînes demandent une faible énergie pour se déformer. De plus l'attribution des bandes dans cette région est difficile car, *primo*, il n'y a que très peu de spectres Raman ou infrarouge qui ont des énergies vibrationnelles inférieures à 600 cm^{-1} , et *secundo*, il n'y a pas ou peu de bandes définies dans les tables à ces énergies car leurs énergies vibrationnelles sont grandement affectées par les molécules avoisinantes et les conformations de chaîne. Nous avons toutefois montré par comparaison des spectres vibrationnels des brevetoxines que cette bande de faible énergie est attribuable

à la déformation de la structure de la chaîne polycyclique. Il nous a été possible de vérifier cette attribution car la structure de la PbTx-3 réduite, qui ne contient pas de doubles liens entre les atomes de carbones 27 et 28, vibre à une plus faible énergie.

Nous avons aussi trouvé que tous les spectres SETI de jonction sandwich du type Al / Al₂O₃ / brevetoxines / Pb ont une large et forte bande dans la région 875 – 975 cm⁻¹. Cette bande se retrouve aussi dans le spectre d'une jonction fabriquée sans brevetoxines. Nous attribuons cette bande à la vibration d'étirement de la liaison Al - O de l'alumine qui sert de barrière de potentiel. Cette bande est large et forte due aux différentes formes d'oxydation de l'aluminium. L'alumine dans notre cas est noté AlO_x où *x* est variable dans une jonction. Même si nos méthodes expérimentales favorisent la production d'alumine du type Al₂O₃, la présence d'humidité en contact avec la jonction nous donne un faible pourcentage d'hydroxyde d'aluminium contenant la molécule Al(OH)₃.

Nous avons assigné le spectre vibrationnel complet des molécules de brevetoxines dans l'article présenté dans la section publication. Cette attribution est la première attribution de spectre vibrationnel de brevetoxines et aussi la première attribution d'une molécule composée d'une chaîne polycyclique. L'attribution complète est donnée à la table 2 de l'article présenté à la section 2.1.

Nous avons aussi obtenu pour la première fois un spectre SETI qui ne contient que très peu de bruit par accumulation de spectres. Il est difficile d'obtenir des spectres

contenant un minimum de bruit avec la SETI dus au faible courant mesuré et au bruit apporté lors du calcul de la seconde dérivée du courant. Nous avons utilisé une moyenne de spectres mesurés sur une jonction afin de diminuer le bruit du spectre. Notre spectromètre permet d'effectuer des mesures pendant plusieurs heures sans assistance, ce qui n'est pas possible pour les autres spectromètres SETI. De plus, la plupart des spectromètres SETI utilisent une table traçante pour l'acquisition directe de la courbe I-V. Dans notre cas, un convertisseur analogique-numérique nous donne un spectre numérique qui est sauvé dans l'ordinateur, ce qui nous permet des manipulations tels moyennage de spectres et soustraction de ligne de base. Finalement l'amplificateur synchrone utilisé dans notre système pour la mesure de la seconde dérivée est numérique et présente les meilleures caractéristiques de tous les amplificateurs synchrones disponibles sur le marché. Tous ces avantages électroniques nous ont permis d'obtenir un rapport S / B assez élevé pour pouvoir effectuer une reconstitution de bandes de nos spectres vibrationnels dans la région $1\,330 - 1\,550\text{ cm}^{-1}$. Cette région contient les modes vibrationnels qui sont attribuables à la vibration pliage (bending) de la liaison C - H. L'énergie de cette vibration diffère légèrement si le groupement est du type C - CH, HO - CH₂, C - CH₂, C - CH₃, de plus la vibration en ciseau (scissoring) du CH₂ a une énergie similaire. Comme la SETI a une résolution typique de l'ordre de 8 cm^{-1} , il nous est difficile de séparer ces bandes. Toutefois, la reconstitution de bandes (article présenté à la section 2.1, table III) nous a permis de distinguer les groupements associés aux bandes vibrationnelles dans cette région.

Dans le cas du second article présenté dans la deuxième section, nous avons utilisé la SETI pour étudier le spectre vibrationnel de polymères en cours de formation par le procédé sol-gel. Comme les spectroscopies infrarouge ou Raman ne permettent pas d'étudier facilement des composés bidimensionnels, et qu'il est difficile en plus d'étudier les modes vibratoires à des énergies inférieures à 600 cm^{-1} , la SETI était la seule possibilité pour l'étude d'un tel composé. Il existe toutefois la spectroscopie de réflectivité infrarouge différentielle par modulation de polarisation (SRIRDMP) qui permet d'étudier les composés bidimensionnels *in situ* à l'interface air-eau, mais cette méthode spectroscopique ne peut être utilisée pour étudier les modes vibratoires d'énergie inférieure à 850 cm^{-1} . De plus cette méthode demande un long temps de mesure, ce qui rend difficile l'étude d'un composé qui peut évoluer dans le temps.

L'étude de films minces d'ODTMS nous a permis de vérifier que la polymérisation est contrôlée par le pH de la sous-phase. Nous avons étudié les spectres de l'acide stéarique, afin de pouvoir faire l'assignation des bandes vibrationnelles des spectres de l'ODTMS par comparaison. Dans ces spectres nous observons aussi la présence de larges bandes attribuables au spectre des phonons à des énergies d'environ 291 cm^{-1} . Nous observons aussi une large bande attribuable à la vibration Al-O entre 941 et 954 cm^{-1} , et une seconde bande plus faible qui apparaît comme un épaulement à une énergie de 717 cm^{-1} .

Nous avons fait l'attribution complète des bandes des spectres vibrationnels de l'acide stéarique et de l'ODTMS dans l'article présenté à la section 2.2. Cette attribution de bandes nous a permis de montrer que le spectre SETI révèle la polymérisation de l'ODTMS car des bandes dues à la vibration d'étirement Si-O-Si symétrique et anti-symétrique sont présentes respectivement vers 622 et 1 045 cm^{-1} . Ces bandes sont présentes dans les spectres des monocouches qui ont été compressés sur une sous-phase de pH 3.3 ou inférieur, prouvant les énoncés de Vidon et Leblanc [référence 34 du chapitre 1] selon lesquels l'ODTMS peut se polymériser à l'interface air-eau à faible pH. Nous notons aussi le déplacement de la bande d'étirement Si-C entre l'atome de silicium et la chaîne hydrocarbonée lors de la polymérisation de l'ODTMS. Cette bande passe de 860 à 785 cm^{-1} lors de la polymérisation.

Nous avons aussi trouvé que l'ODTMS compressé à un pH de 3.8 est condensé. Ce qui prouve que l'ODTMS peut se condenser et former au moins une terminaison Si-OH. Cette bande est située à 1 071 cm^{-1} dans le spectre de l'ODTMS déposé par la méthode Langmuir-Schaefer (L-S) à pH 3.8.

Nous avons montré aussi pour la première fois que la SETI peut être utilisée pour l'étude de films Langmuir déposés sur l'alumine. Même si les études précédentes ont suggéré qu'il était difficile d'obtenir des spectres SETI de molécules déposées par la méthode Langmuir-Blodgett (L-B) due à la formation d'une couche épaisse d'oxyde

d'aluminium, nous avons montré que la technique L-S peut être utilisée pour étudier les spectres vibrationnels de films monomoléculaires organisés.

Finalement nous avons montré que la SETI est une méthode qui peut être utilisée pour mesurer des spectres vibrationnels sur une large gamme spectrale pour des films ultra-minces préparés par différentes méthodes et qu'elle peut même être utilisée pour l'étude de composés disponibles en faible quantité.

Dues aux difficultés inhérentes à la fabrication d'une jonction SETI, cette méthode est destinée à rester une méthode spectroscopique marginale. La SETI n'est pas appelée à disparaître car elle comporte des grands avantages sur les méthodes spectroscopiques conventionnelles, mais son utilisation restera très spécialisée.